

The background is a dark blue gradient with several overlapping circular patterns. Some are solid lines, some are dashed, and some have arrows indicating a clockwise direction. A large, faint scale is visible, ranging from 140 to 260 in increments of 10, with smaller tick marks between the numbers. The text is centered in the upper half of the image.

ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΚΑΙ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ

ΜΑΡΙΑ ΓΕΩΡΓΙΟΥ, PhD
LERIVA DIAGNOSTICS

1947 Gucker, προσδιορισμός βακτηρίων και σπόρων σε αερολύματα

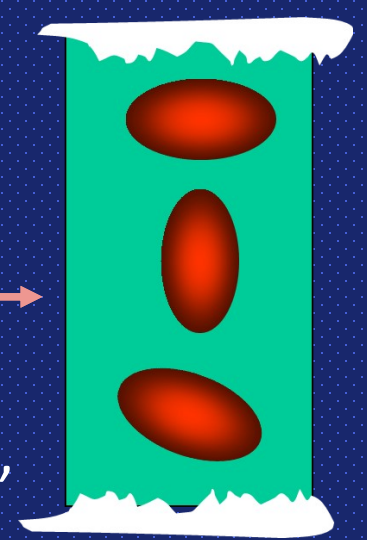
1964 Mack Fulwyler & Clarence Lushbaugh : 2 είδη ερυθροκυττάρων? →

1965 Mack Fulwyler & Richard Sweet (πρώτη δημοσίευση νέας τεχνολογίας, Κυτταροδιαχωριστής Ροής)

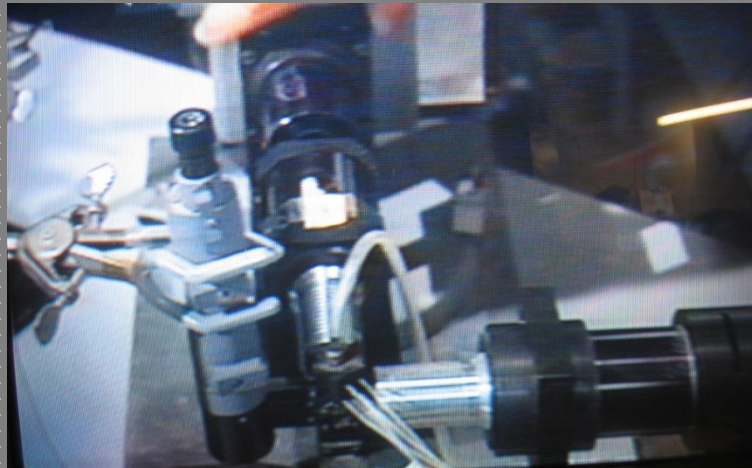
1969 Leonard Herzenberg, Wolfgang Gohde, Cezar Milstein, George Kohler : Monoclonal Abs + FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter)

Μέσα της δεκαετίας **1970**, Joseph Gray, αναπτύσσει μεθόδους για προσδιορισμό και διαχωρισμό χρωμοσωμάτων

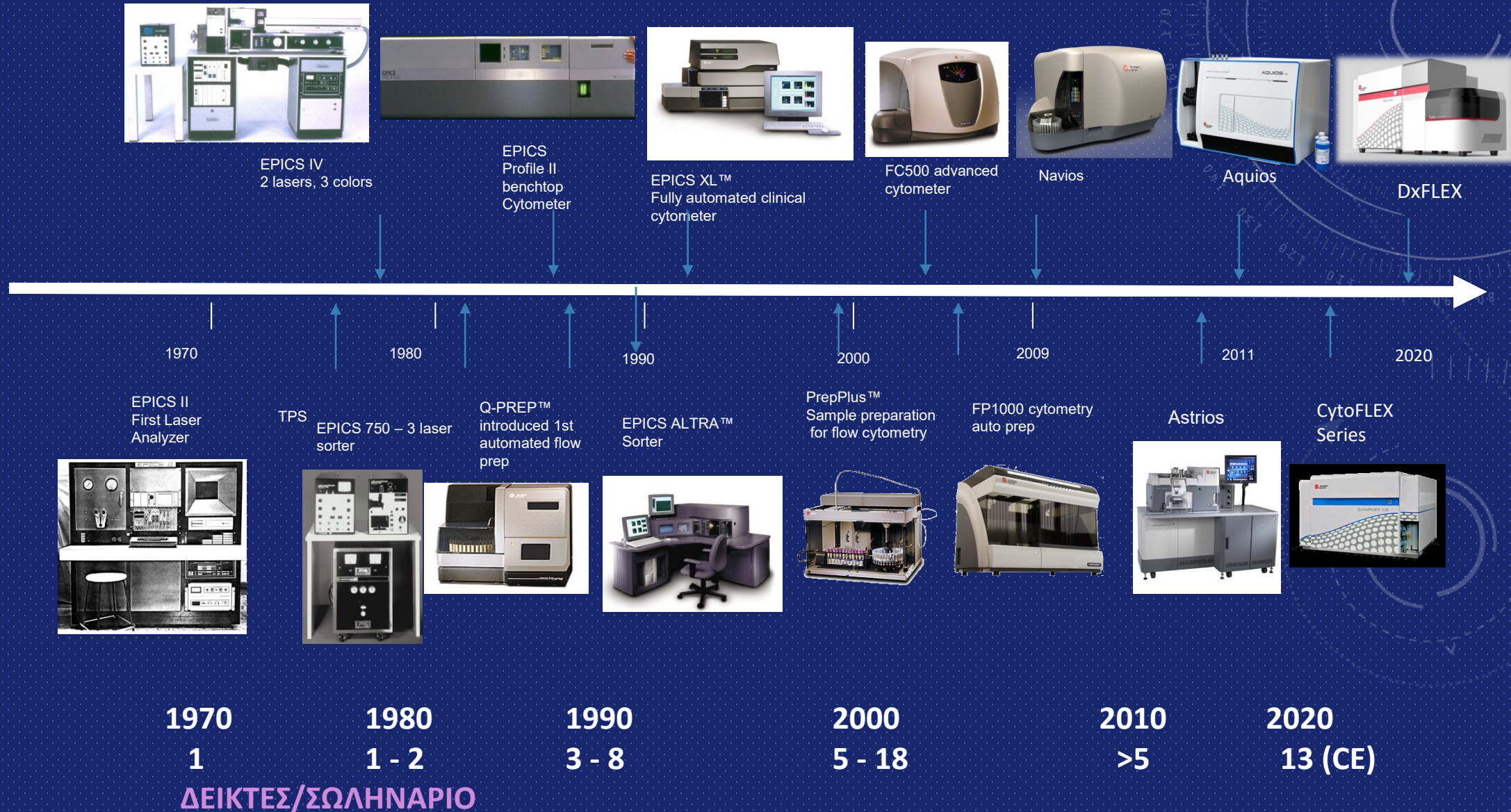
Βραβείο Nobel Ιατρικής 2019, W. G. Kaelin Jr., Sir P. J. Ratcliffe και G. L. Semenza
Ανακάλυψαν τους μοριακούς μηχανισμούς ελέγχου του σώματος στην αλλαγή επιπέδων οξυγόνου. Η κυτταρομετρία ήταν μία από τις βασικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν.



Fulwyler's Sorter



ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ (BECKMAN COULTER)



EPICS IV
2 lasers, 3 colors



EPICS Profile II
benchtop
Cytometer



EPICS XL™
Fully automated clinical
cytometer



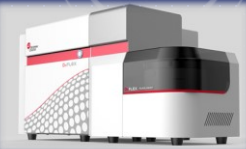
FC500 advanced
cytometer



Navios



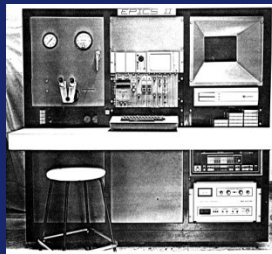
Aquios



DxFLEx

1970

EPICS II
First Laser
Analyzer



1980

TPS
EPICS 750 – 3 laser
sorter



Q-PREP™
introduced 1st
automated flow
prep

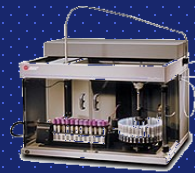


EPICS ALTRA™
Sorter

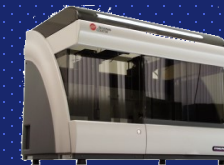


2000

PrepPlus™
Sample preparation
for flow cytometry



FP1000 cytometry
auto prep



2009

Astrios



2011

CytoFLEX
Series



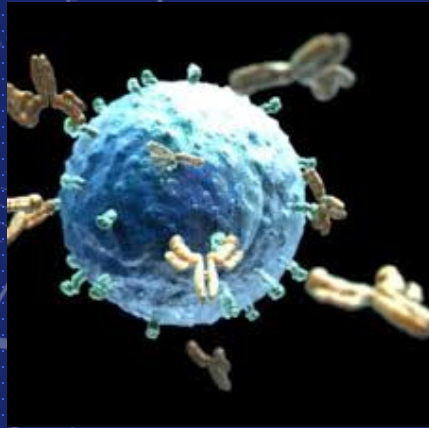
2020

The background is a dark blue gradient with several faint, light blue technical diagrams. On the right side, there are two large circular diagrams resembling flow meters or gauges, with concentric circles and radial markings. On the left side, there are smaller circular diagrams, some with dashed lines and arrows indicating flow direction. The overall aesthetic is clean and technical.

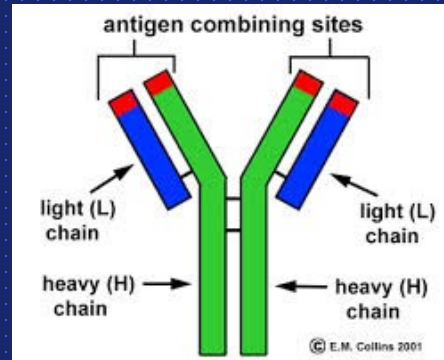
ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ

Με την Κυτταρομετρία Ροής προσδιορίζουμε το είδος των σωματιδίων (κυττάρων) σε εναιώρημα και μπορούμε να μελετήσουμε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες

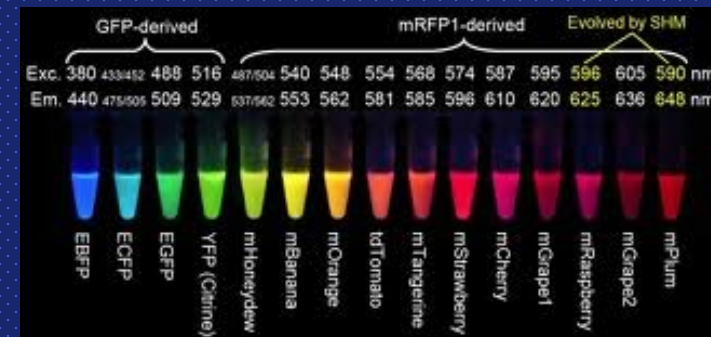
ΚΥΤΤΑΡΑ



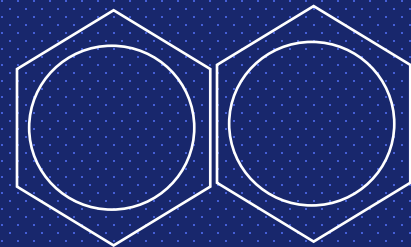
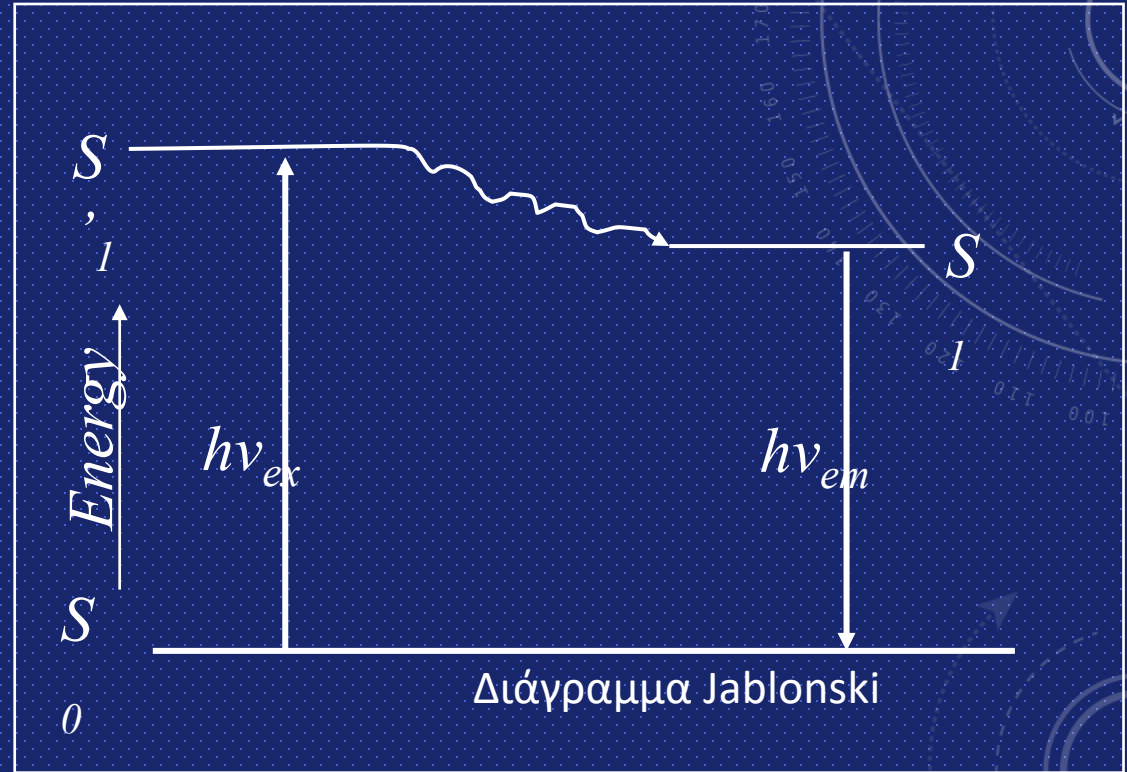
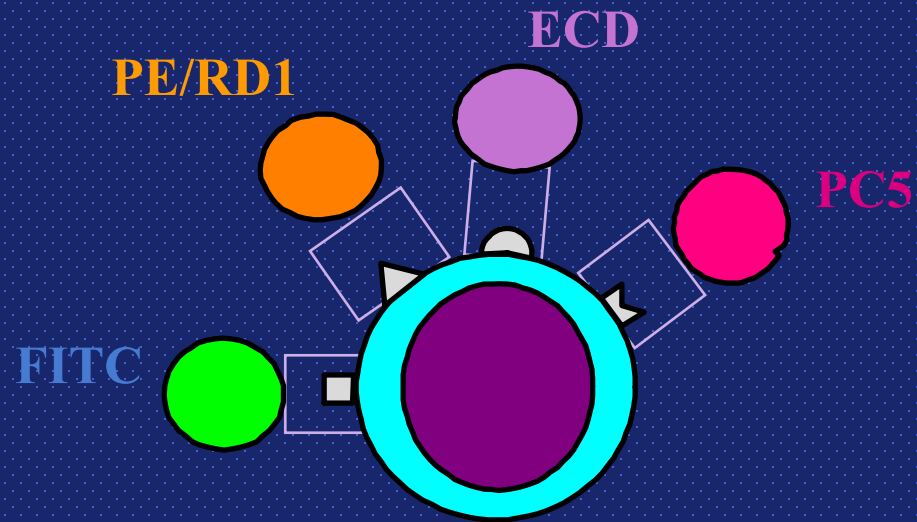
ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ
ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ



ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ



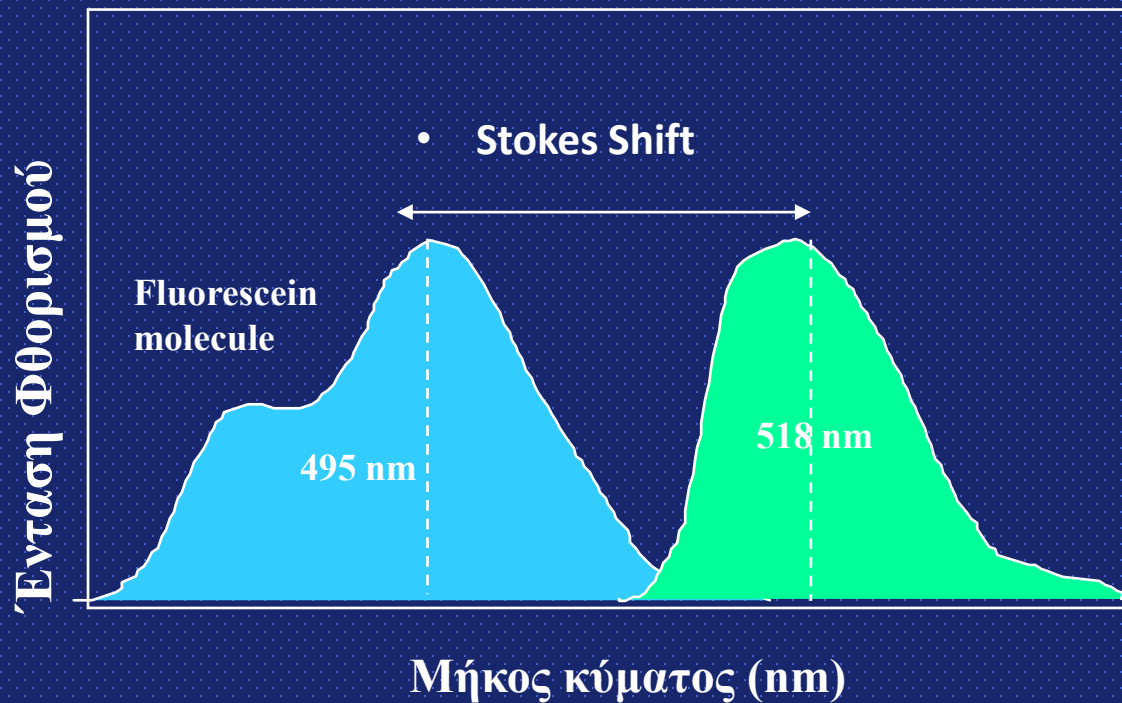
ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ : ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΚΑΘΕ ΚΥΤΤΑΡΟΥ



ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ

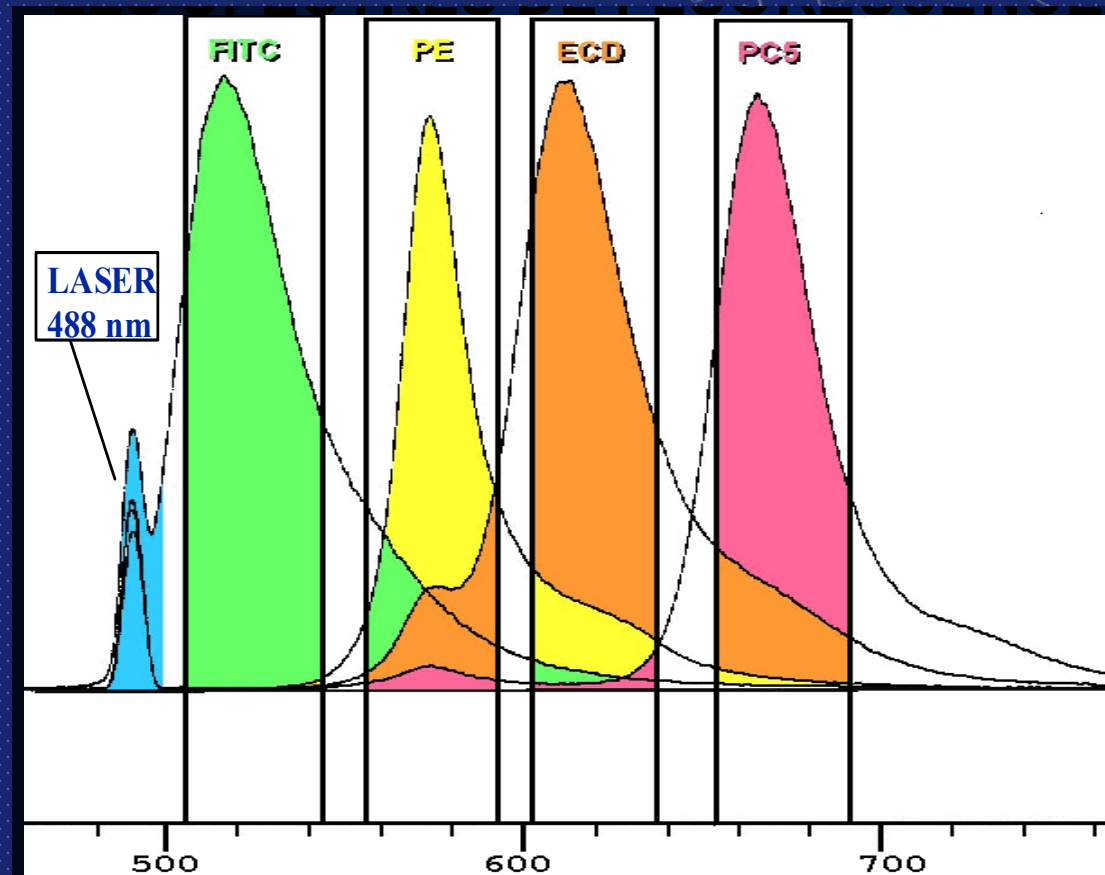
-  FITC
-  RD1/PE
-  ECD
-  PC5

ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ



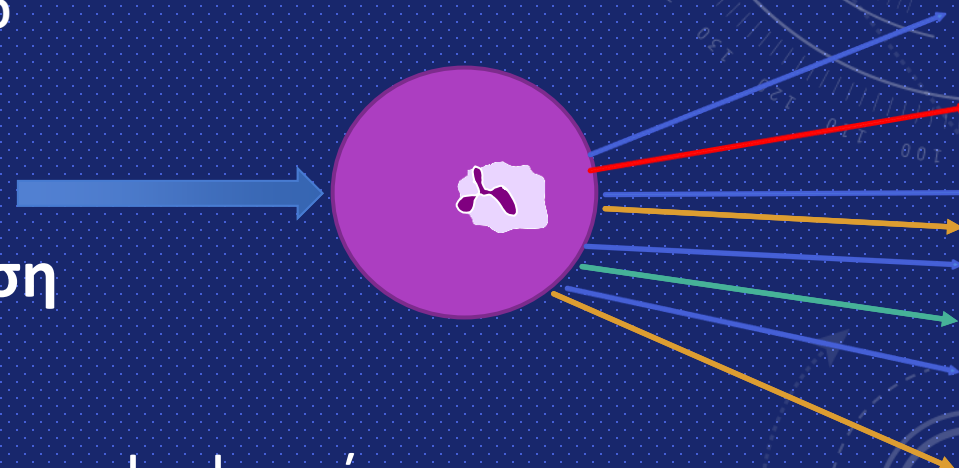
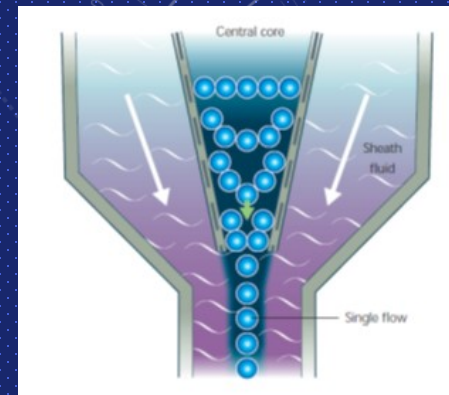
Αλληλεπικάλυψη φασμάτων εκπομπής

Ανάγκη για διόρθωση της αντιστάθμισης των φθορισμών (**compensation**)



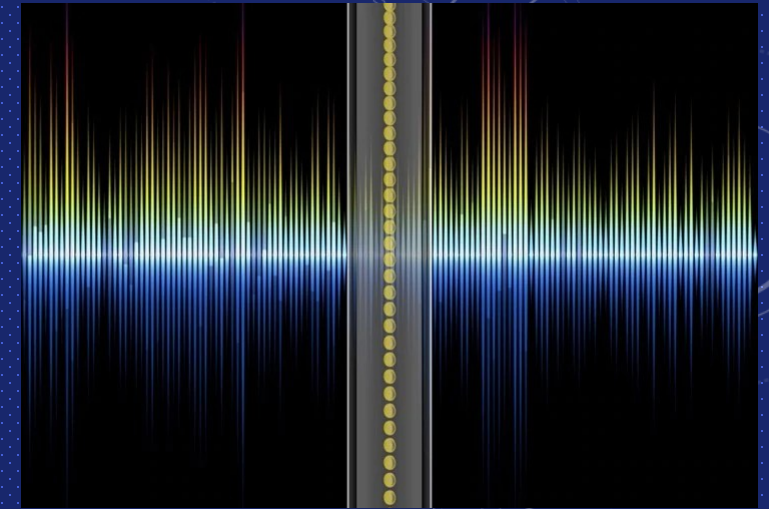
Υδροδυναμική Εστίαση =>μονήρη κύτταρα σε νηματική ροή

- Σκέδαση από ένα ή περισσότερα laser
- Πρόσθιος σκεδασμός Forward scatter (FS) $1-19^\circ$ μέγεθος
- Πλάγιος Σκεδασμός Sideward Scatter (SS) , 90° κοκκίωση
- Συλλογή σημάτων φθορισμού, 90° τυποποίηση
 - Ηλεκτρονικό Σύστημα, μετατροπή σημάτων σε ψηφιακά, αποθήκευση δεδομένων, δυνατότητα για Πολυμετρική Ανάλυση
- Ηλεκτροστατικός διαχωρισμός σωματιδίων (FACS)

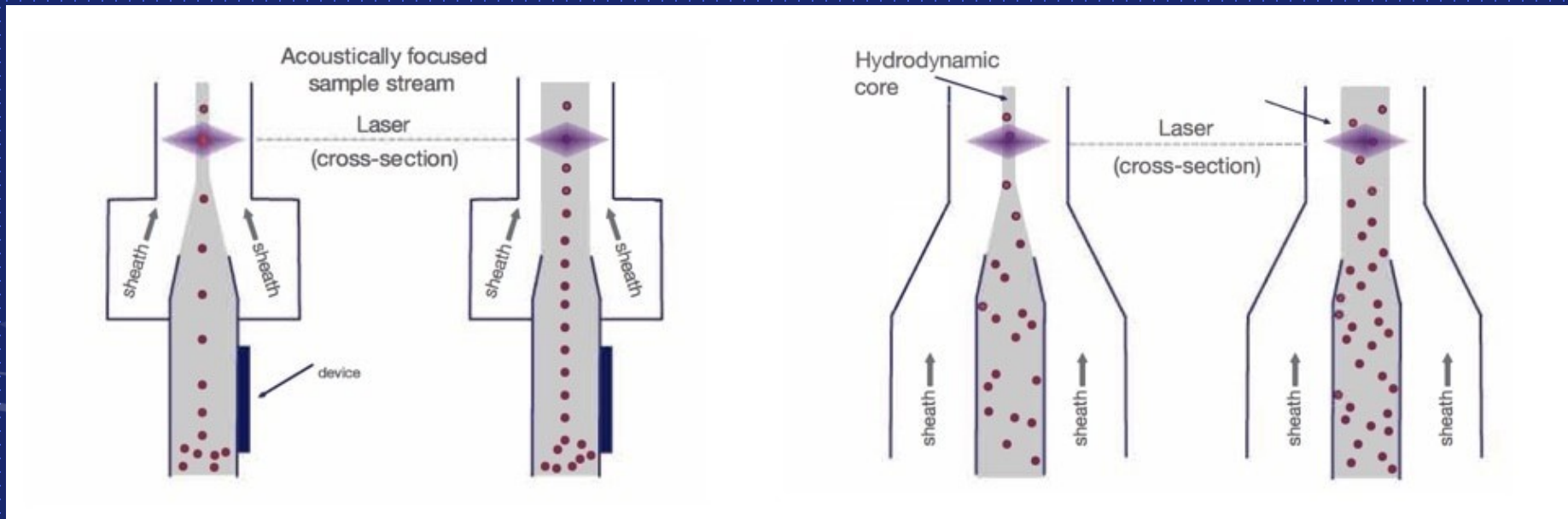


Acoustic focusing

Combines ultrasonic waves like those used in medical imaging with hydrodynamic forces to precisely position cells into a single, focused line in the central axis. Enabling cells to be tightly focused at the point of laser interrogation allows the system to collect more photons, helping to ensure data quality regardless of the sample-to-sheath ratio.



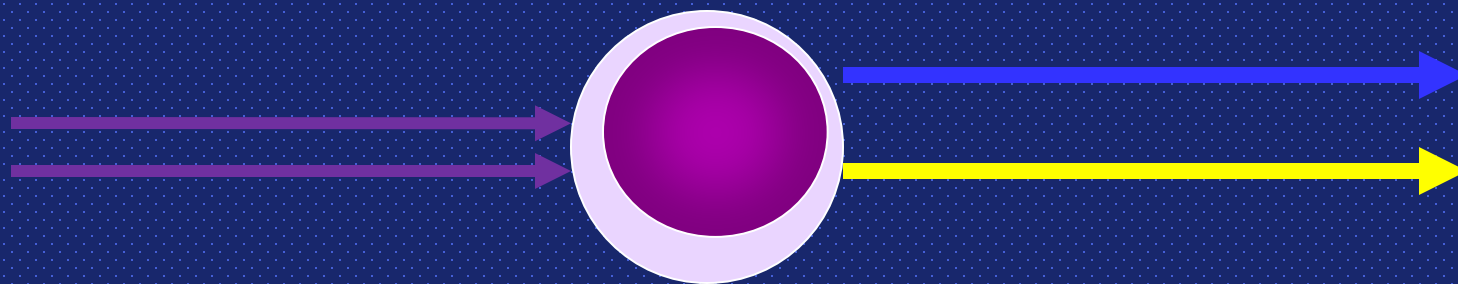
ThermoFisher Scientific



Πολλαπλές πηγές LASER, ροή δείγματος



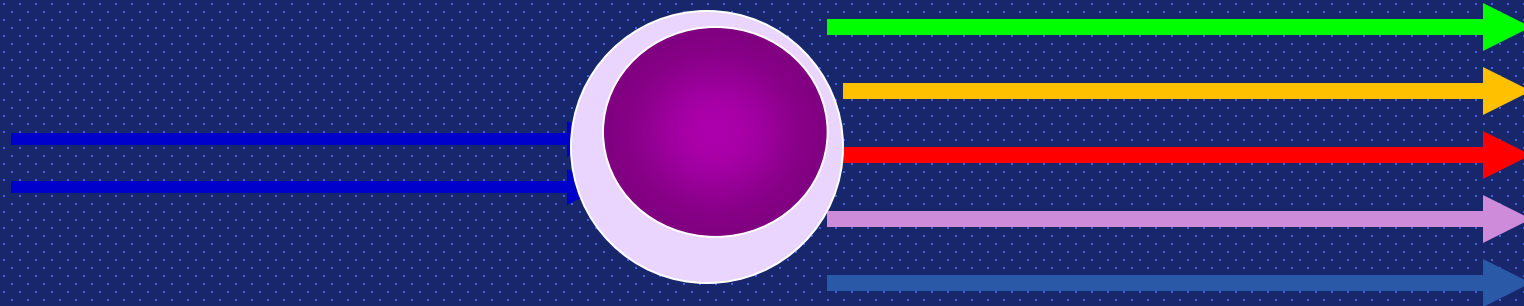
Violet
laser
405nm



Pacific Blue

Krome Orange

Blue laser
488nm



FITC

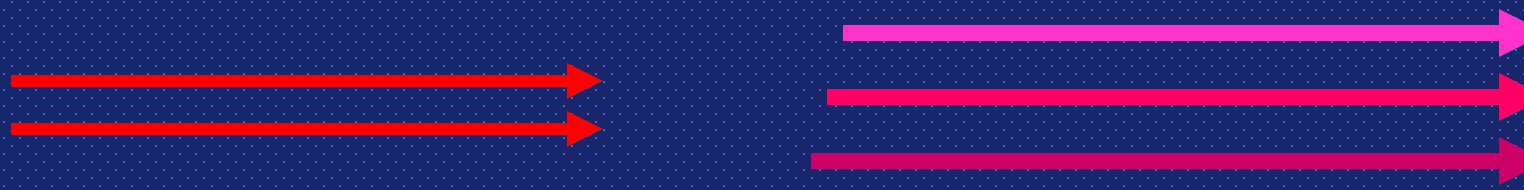
PE

ECD

PE-Cy5.5

PE-Cy7

Red laser
638nm

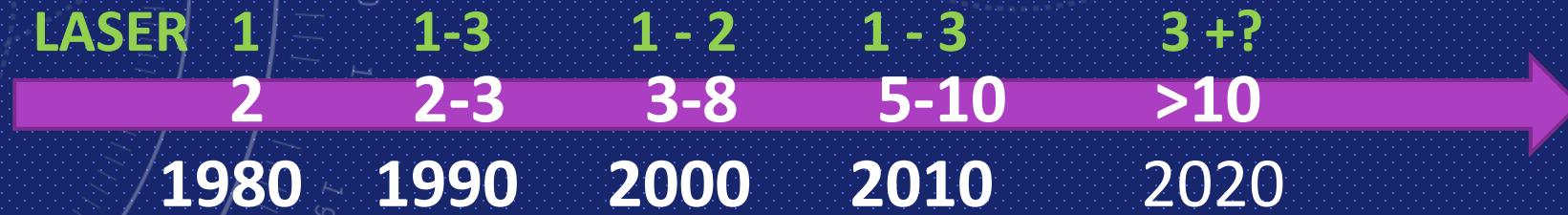


APC

**APC- Alexafluor
700**

**APC- Alexafluor
750**

ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ LASER ΚΑΙ ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΩΝ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΑΝΑ ΣΩΛΗΝΑΡΙΟ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ



	FITC	PE	ECD	PC5	PE-CY7
Σωλ 1	CD14	CD34		CD45	
Σωλ 2	DR	CD34		CD45	
Σωλ 3	CD13	CD34		CD45	
Σωλ 4	CD2	CD34		CD45	
Σωλ 5	CD19	CD34		CD45	

	FITC	PE	ECD	PC5	PE-CY7
Σωλ 1	CD14	CD13	CD34	DR	CD45
Σωλ 2	CD2	CD33	CD34	CD19	CD45

	405nm		488nm				633nm			
	Pacific Blue	Krome Orange	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750
Σωλ 1	DR	CD45	CD2	CD13		CD19	CD33	CD34		CD14



ΣΤΙΚΤΟΓΡΑΜΜΑΤΑ (DOT PLOTS)

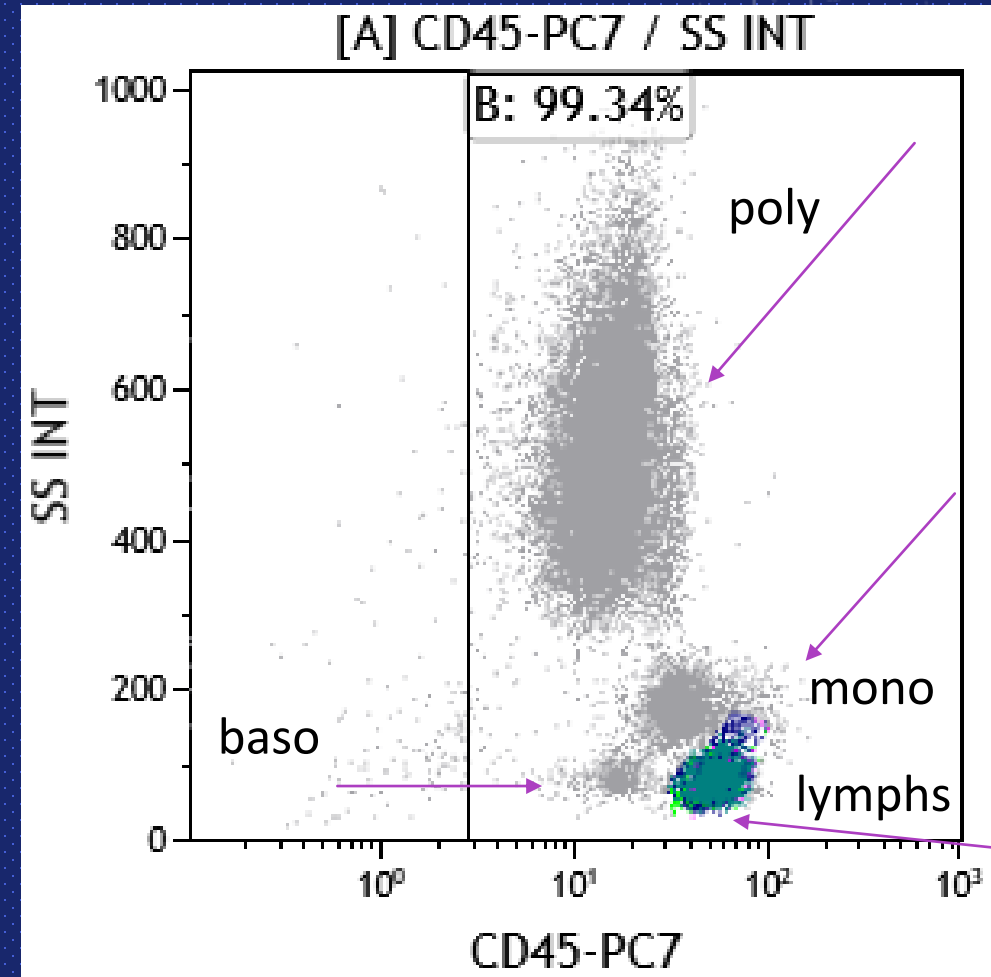
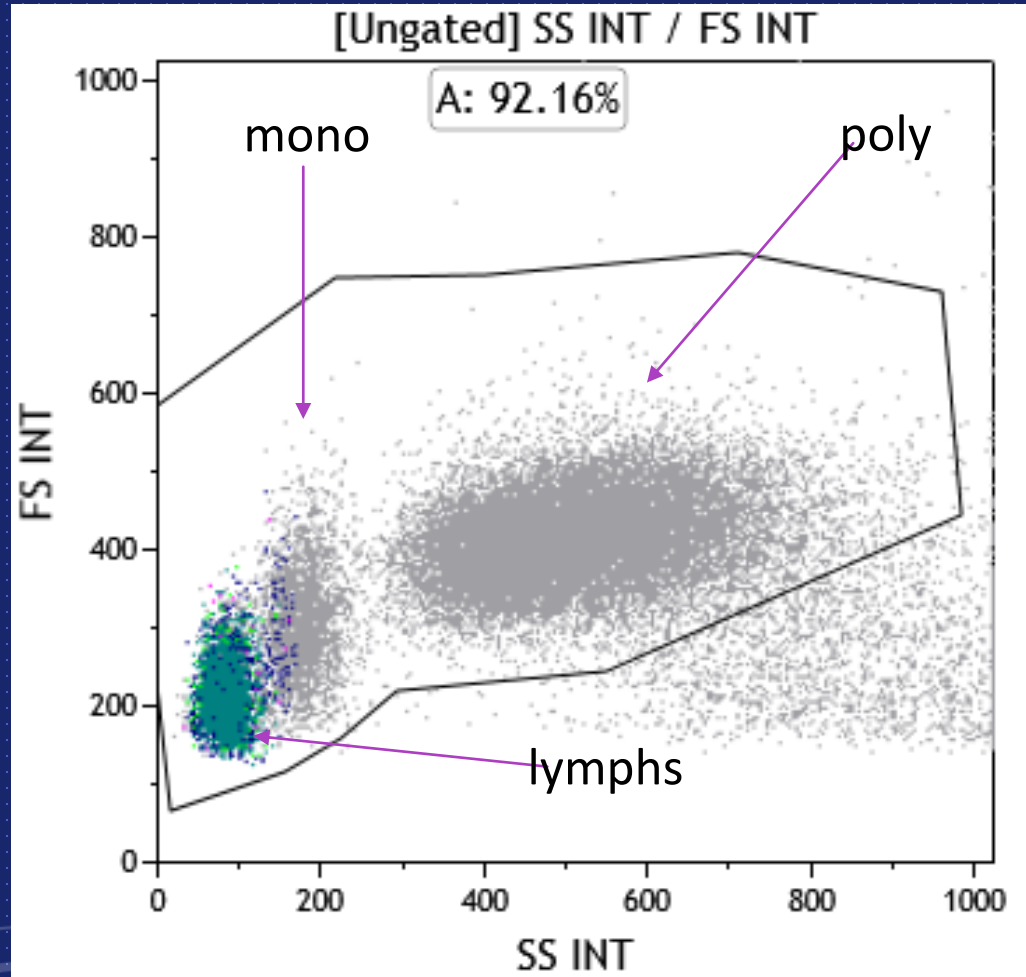
ΟΡΙΟΘΕΤΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (GATING)

ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

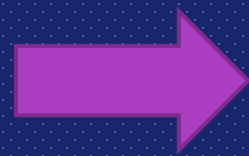
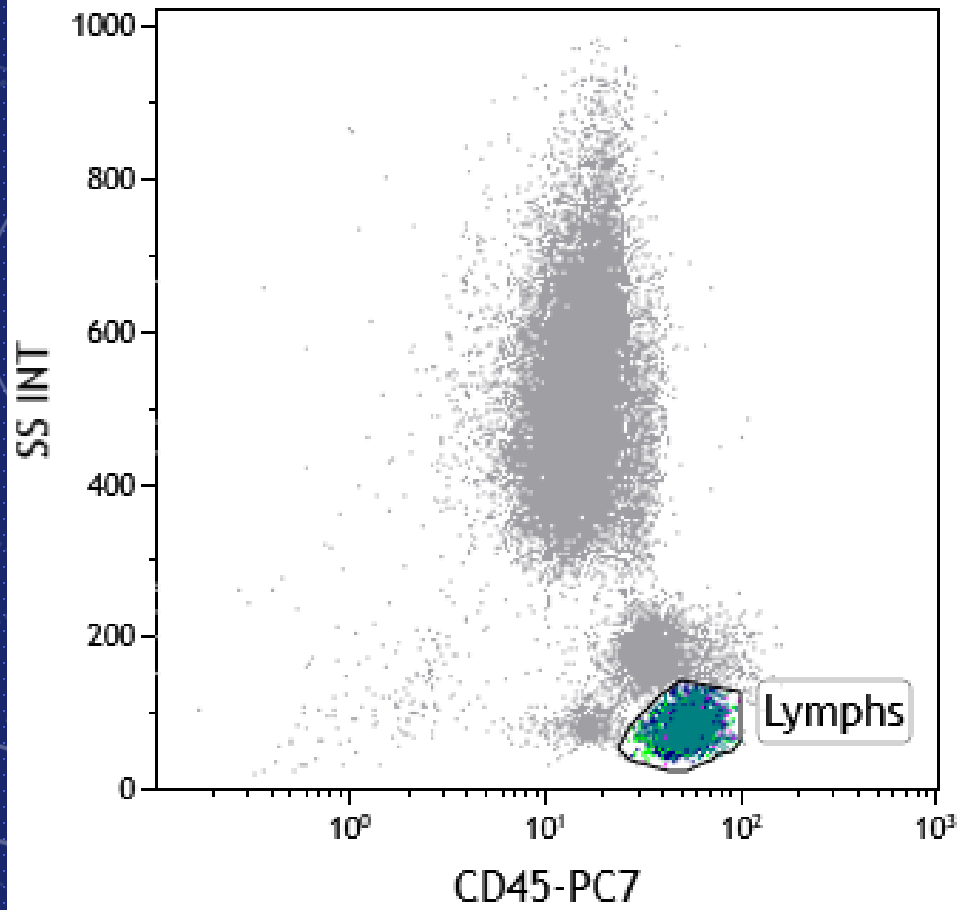
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ : ΣΚΕΔΑΣΗ SS/FS

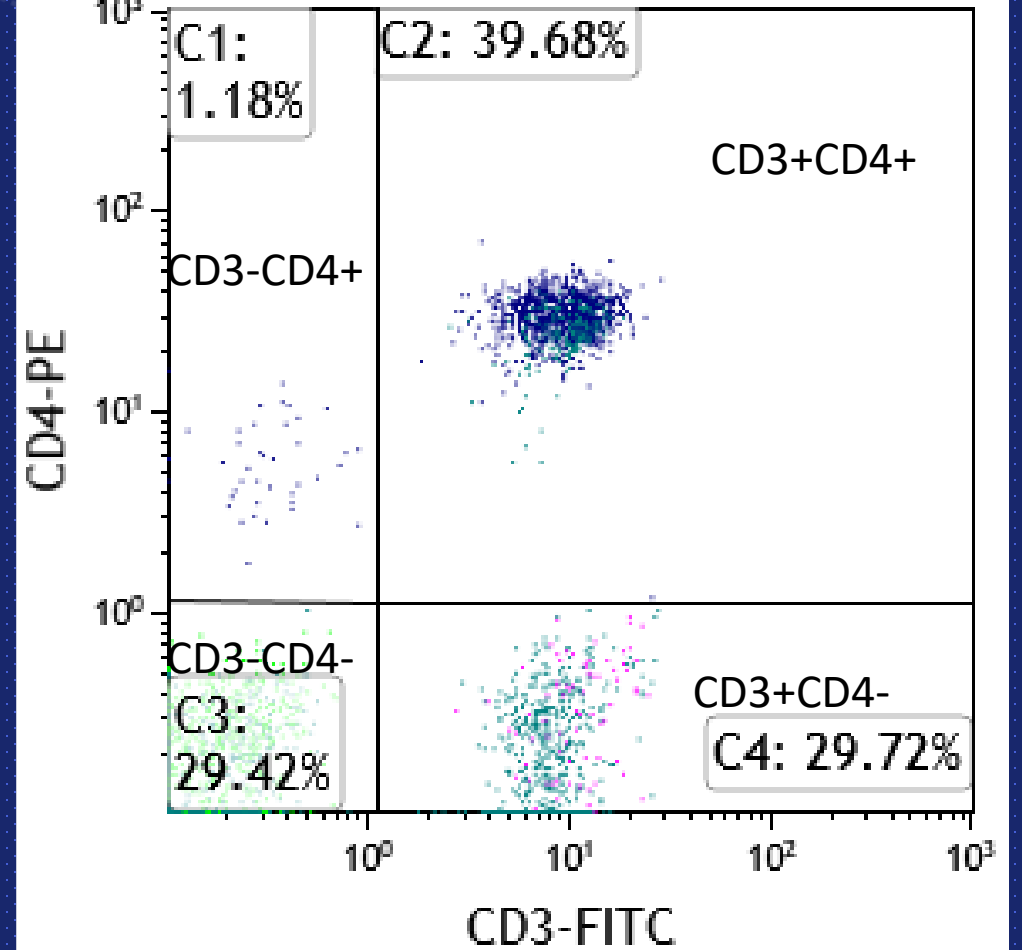
ΣΚΕΔΑΣΗ – ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ SS/FL



[A] CD45-PC7 / SS INT

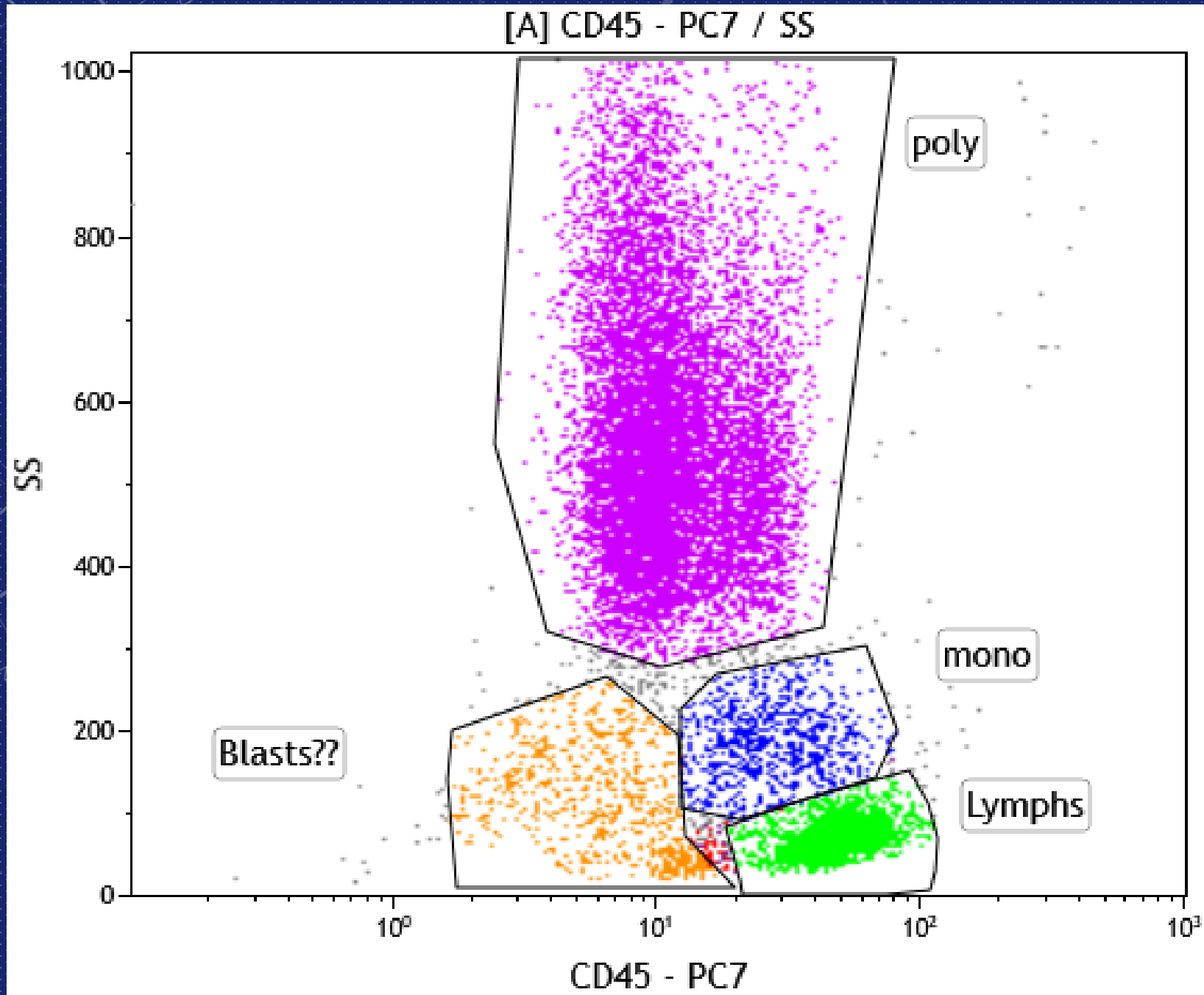


[Lymphs] CD3-FITC / CD4-PE



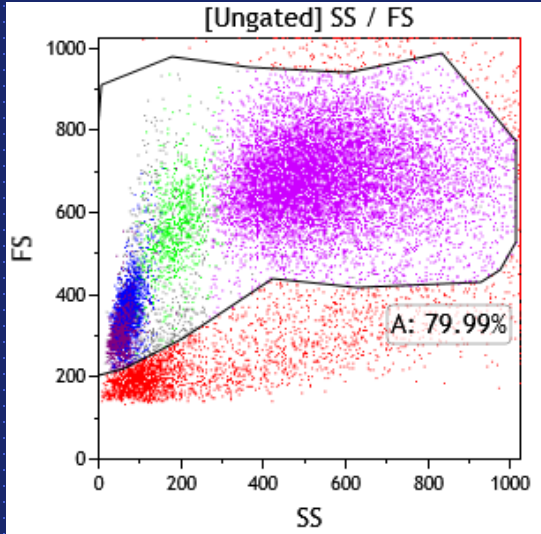
Μυελός

SS/CD45



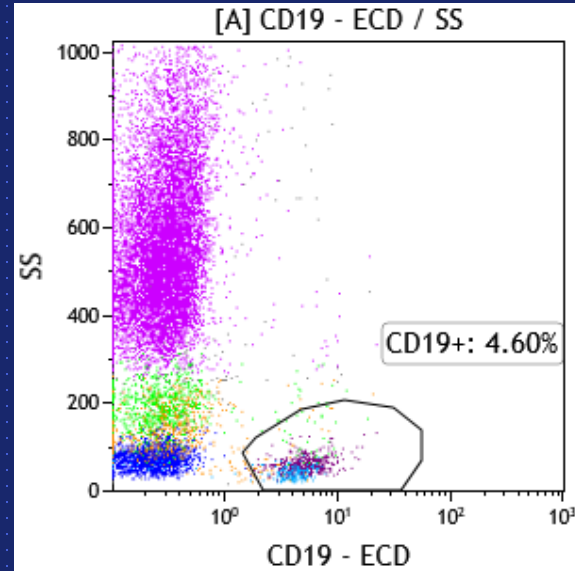
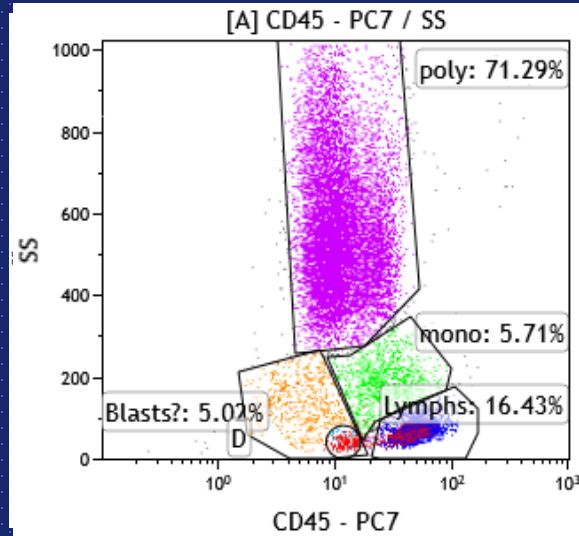
ΟΡΙΟΘΕΤΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (GATING)

Real-time vs. software

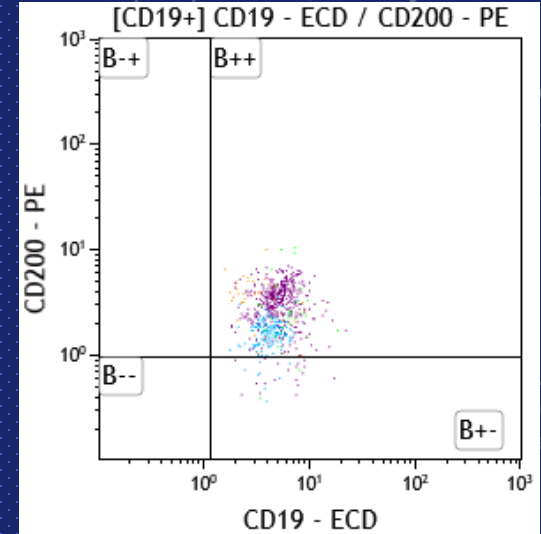


Προσδιορισμός
Ορίων θετικότητας

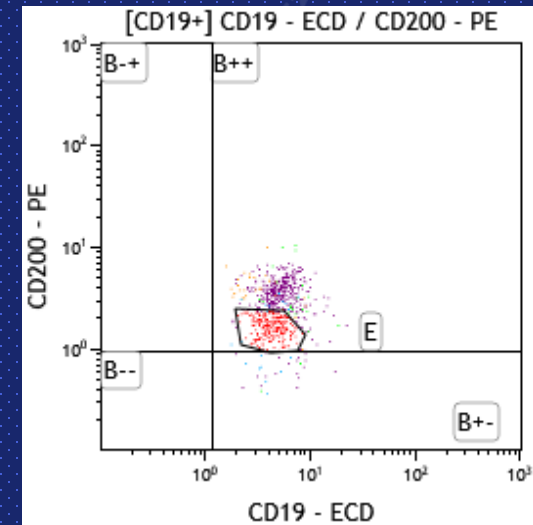
Στρατηγική οριοθέτησης



Ανάλυση



Back Gating



Εφαρμογές Κυτταρομετρίας Ροής στα Κλινικά Εργαστήρια

Γρήγορη διάγνωση

Αιματολογία: Λευχαιμία / Λεμφώματα, Μυέλωμα, ΜΔΣ, ΡΝΗ
παρακολούθηση – πρόγνωση (MRD), Έλεγχος προϊόντων Αιμοδοσίας,
Σύνδρομα

Ορθότερη πρόγνωση

Ανοσολογία – Πρωτοπαθείς Ανοσοανεπάρκειες – Κυτταρική Ανοσία
Καθ' έξιν αποβολές

Ευκολότερη απόφαση

Μεταμόσχευση : Διασταύρωση (Cross match), Αρχέγονα Αιμοποιητικά (HPC+), Ανοσιακή αποκατάσταση

Λοιμώξεις : HIV, COVID-19
Ανίχνευση παθογόνων (HPV)

Εφαρμογές Κυτταρομετρίας Ροής στα Κλινικά Εργαστήρια

Αλλεργίες

Γρήγορη διάγνωση

Έλεγχος εμβρυομητρικής αιμορραγίας

Μελέτη ΔΕΚ, Αιμοπεταλίων

Ορθότερη πρόγνωση

Ανίχνευση κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων

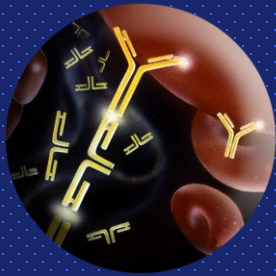
Μελέτη κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών κυττάρων

Ευκολότερη απόφαση

Μελέτη μεσεγχυματικών κυττάρων

Μελέτη γονιδιακής έκφρασης (FLOW FISH)

ΟΜΟΦΩΝΙΑ ΣΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ: ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ & ΛΕΜΦΩΜΑΤΑ

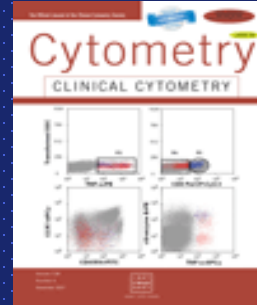


1st HLDA Workshop

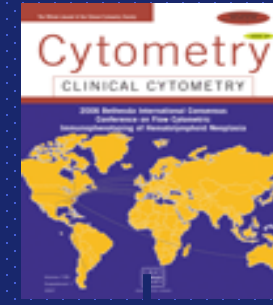
Köhler & Milstein
1975



EGIL



US / Canada



2006
International
Bethesda



FAB
Classification

NCCLS
guidelines



2001: 1st WHO
Classification



2008 Revised WHO
Classification



2016 Revised WHO
Classification



Bethesda 2006 και WHO 2008

ELN , ICCS, CLSI, EuroFlow , GEIL, iBFM, ERIC κα

Στο εργαστήριο

Παραλαβή δειγμάτων (αίμα, μυελός, ΕΝΥ, πλευριτικό υγρό, υαλώδες υγρό, FNA, BAL, μοσχεύματα αιμοποιητικού)

Μέτρηση δειγμάτων εντός 24ωρου

ΕΝΥ, πλευριτικό, FNA, οξείες, CD34+ άμεσα

Κατεργασία: επώαση με αντισώματα – λύση ερυθρών – συμπύκνωση δείγματος ?

Αρχικό διερευνητικό πρωτόκολλο



- Αναγνώριση τυχόν βλαστικού πληθυσμού
- Ταυτοποίηση της σειράς Β, Τ ή ΝΚ λεμφοϋπερπλασίες, έλεγχος κλωνικότητας
- Κυτταροπενικά δείγματα?? Αρκεί ο απλός φαινότυπος ?

Εξειδικευμένο πρωτόκολλο

Τυποποίηση οξείας λευχαιμίας, λεμφωμάτων
Καθορισμός ωρίμανσης
Εύρεση LAIPs (Leukemia Associated ImmunoPhenotypes)

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

A) ΑΠΛΟΣ ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ και HIV

Απλός Φαινότυπος : Προσδιορισμός T, B και NK κυττάρων στα λεμφοκύτταρα

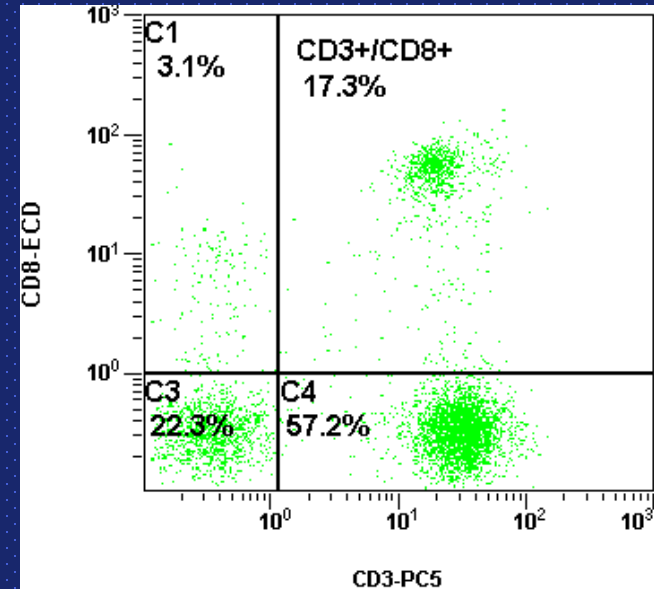
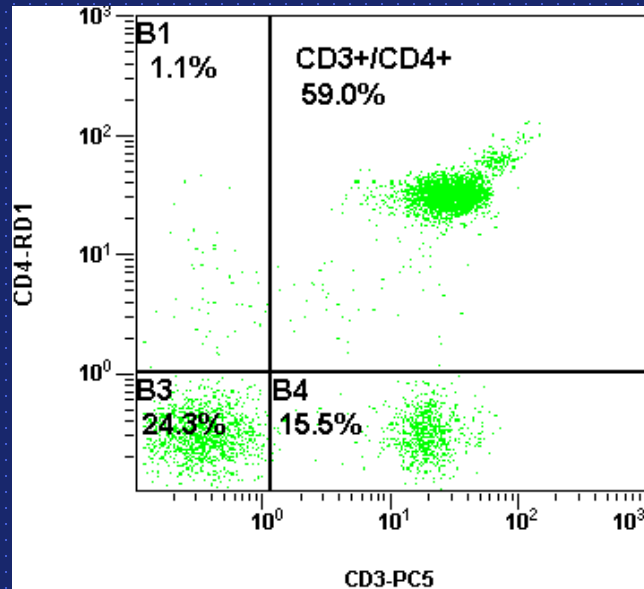
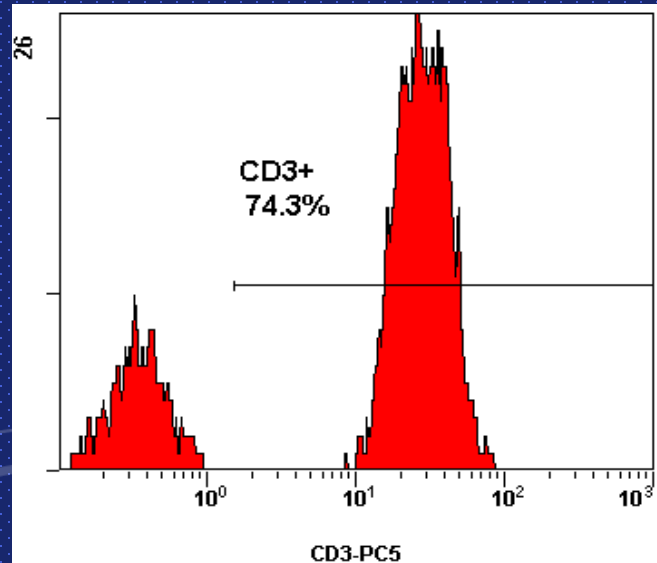
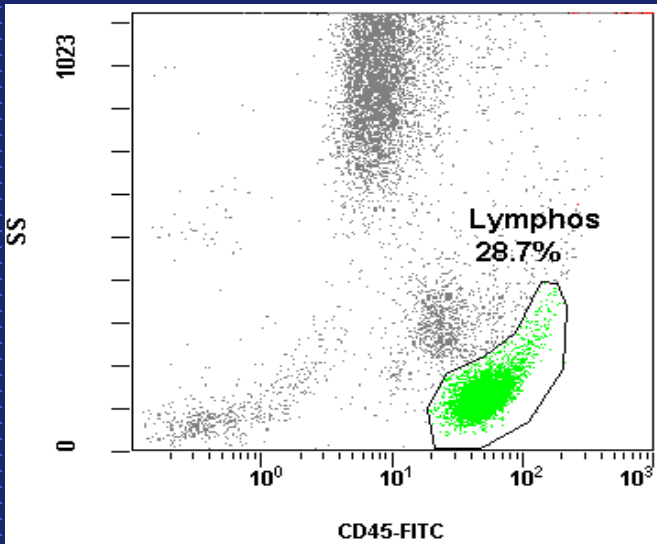
T ΚΥΤΤΑΡΩΝ : CD3, CD4, CD8

B : CD19

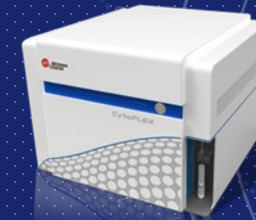
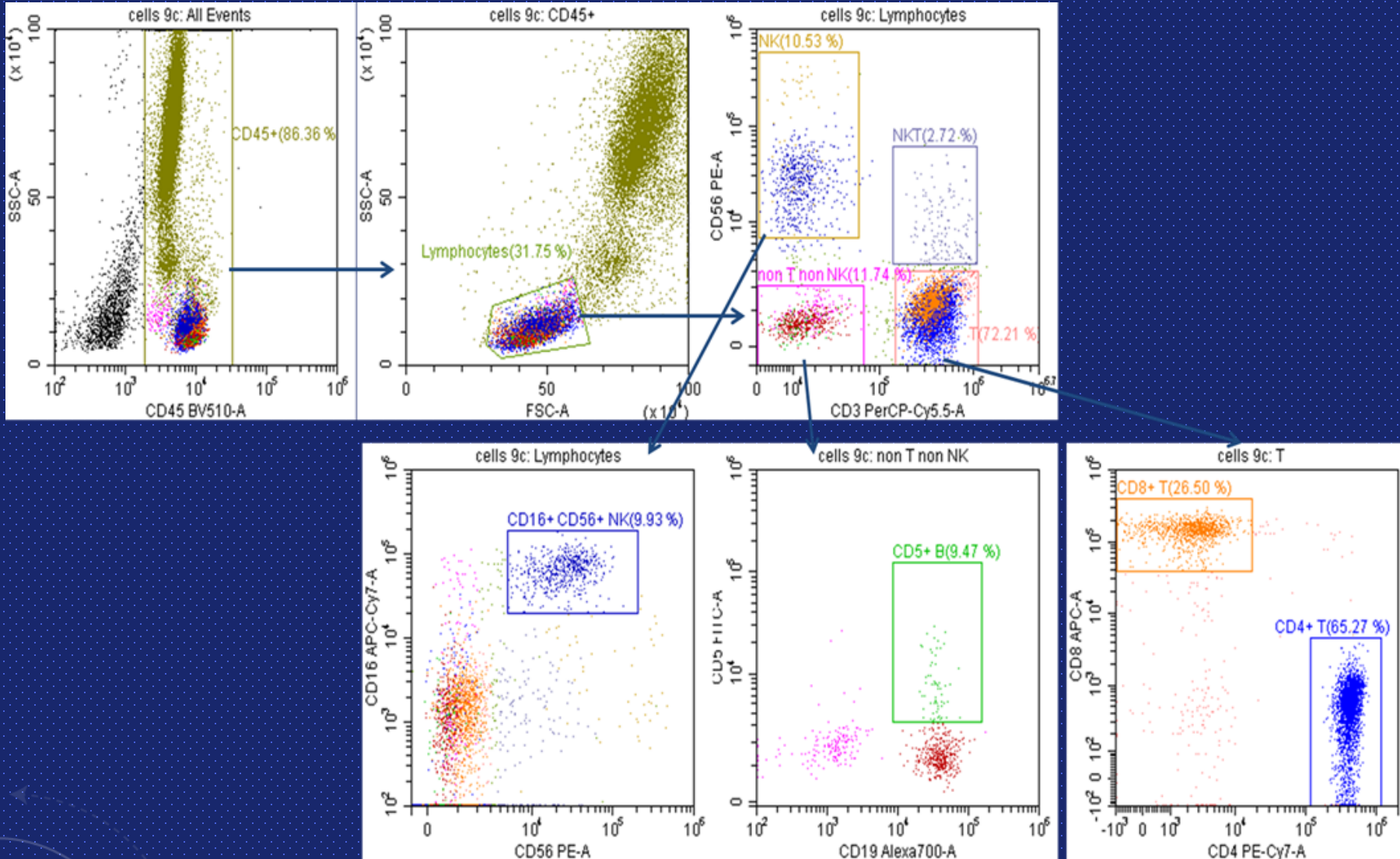
NK : CD16, CD56

Το άθροισμα T+B+NK= 100%
λεμφοκυττάρων $\pm 5\%$

CD45 (Παν-λευκοκυτταρικό)



ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΛΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ



- CD 45+
- CD 16+
- CD56+
- CD3+
- CD 5+
- CD 8+
- CD4+
- CD19+

Analysis of the human control leukocyte cells clearly demonstrates expected populations of (T cells, NKT cells, NK cells, and B cells).

Data provided by BC Miami R&D



ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Α) ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ – ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ COVID 19



What we need to know, what we have to do (1)

- 1) Cossarizza, A., De Biasi, S., Guaraldi, G., Girardis, M., Mussini, C. and (2020), SARS-CoV-2, the Virus that Causes COVID-19: Cytometry and the New Challenge for Global Health. *Cytometry*, 97: 340-343. doi:[10.1002/cyto.a.24002](https://doi.org/10.1002/cyto.a.24002)

1. The role of different components of innate immunity, such as monocytes, macrophages, dendritic cells, NK cells, and different innate lymphocytes, and their ability in controlling the early phases of the infection.
2. The production and utilization of cytokines, chemokines, and their receptors, which are crucial in the initial cytokine storm.
3. The kinetics of the humoral response and production of antibodies against the virus including those with neutralizing activity.
4. The importance of different types of B and plasma cells, considering the problems related to short- and long term memory.
5. The role of T-cell immunity, with the identification of eventual gross changes in CD4+ and CD8+ T cell populations that could have a prognostic meaning.
6. The specific T-cell response to different viral epitopes, which could allow a better characterization of the most antigenic parts of the viral proteins.
7. The importance of regulatory T-cells in modulating the response and controlling, or favoring, immunoactivation and suppression.



Dry Reagent Technology For Rigorous Flow Cytometry To Investigate Adaptive Immune Responses

Functional assays

Product	405 nm		488 nm					633 nm			
	PB	KrO	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	AF647	AF700	AF750
IF T Activation B88649 (25 tests RUO)	CD4	-	IFN γ	TNF α	-	-	IL-2	-		CD8	CD3
IF T Helper Cell C04666 (25 tests RUO)	IL-17A	-	IFN γ	-	-	-	IL-4	CD4		-	CD3

	CONTAINED STIMULATING AGENTS	TESTED SAMPLE VOLUMES	ACTIVATION CHARACTERISTICS	MATCHING DURACLONE ANTIBODY PANEL
DURActive 1 C11101 (25 tests, RUO)	PMA / Ionomycin / Brefeldin A	50 μ L heparinized whole blood 0.5x10 ⁶ PBMCs in 50 μ L suspension	Broad activation Inhibition of secretion	DURAClone IF T Activation (B88649) DURAClone IF T Helper Cell (C04666)
DURActive 2 C11102 (25 tests, RUO)	PMA / Ionomycin		Broad activation	Detection of soluble compounds, DURAClone IF T Activation (B88649), DURAClone IF T Helper Cell (C04666) (using secretion inhibitors such as Monensin)

Phenotyping assays

Product	405 nm		488 nm					633 nm				
	PB	KrO	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	AF647	AF700	APC-AF700	APC-AF750
IM Phenotyping Basic Tube B53309 (25 tests RUO)	-	CD45	CD16	CD56	CD19	-	CD14	CD4	-	CD8	-	CD3
IM B Cell Tube B53318 (25 tests RUO)	IgM	CD45	IgD	CD21	CD19	-	CD27	CD24	-	-	-	CD38
IM T Cell Subsets Tube B53328 (25 tests RUO)	CD57	CD45	CD45RA	CCR7	CD28	PD1	CD27	CD4	-	CD8	-	CD3
IM Dendritic Cells Tube B53351 (25 tests RUO)	HLA-DR	CD45	CD16	Lineage**	-	CD1c	CD11c	Clec9A	-	-	CD123	-
IM TCRs Tube B53340 (25 tests RUO)	TCRV δ 2	CD45	TCRV δ	TCR $\alpha\beta$	HLA-DR	-	TCRV δ 1	CD4	-	CD8	-	CD3
IM Treg Tube B53346 (25 tests RUO)	Helios	CD45	CD45RA	CD25	-	CD39	CD4	-	FoxP3	-	-	CD3
IM Granulocytes Tube B88651 (25 tests RUO)	CD15	CD45	CD294	-	CD16	CD33	CD11b	PD-L1	-	-	Lineage***	CD62L
IM Count Tube C00162 (25 tests RUO)	-	-	CD45	Counting Beads		7-AAD	-	-	-	-	-	-

* : CD3 / CD19 / CD20 / CD14 / CD56

** : CD3 / CD14 / CD19 / CD56

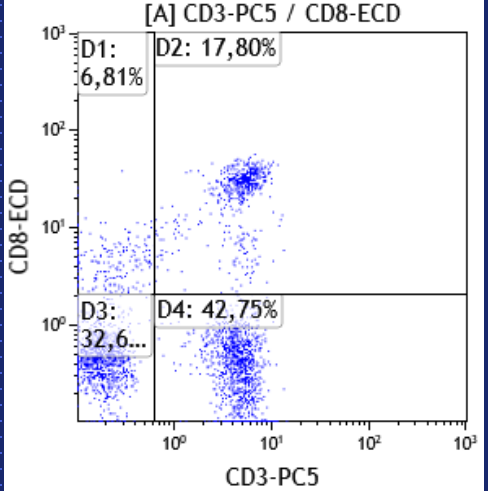
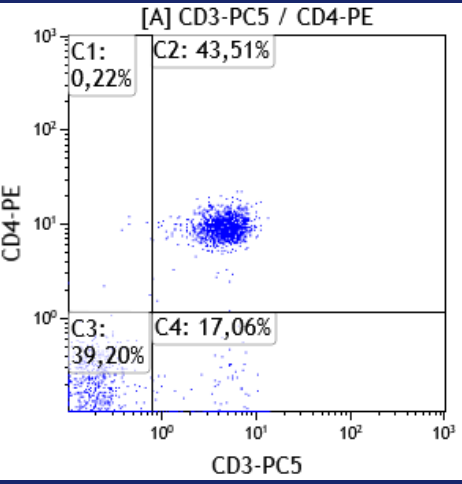
Quality Standard
ISO9001 : 2015

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

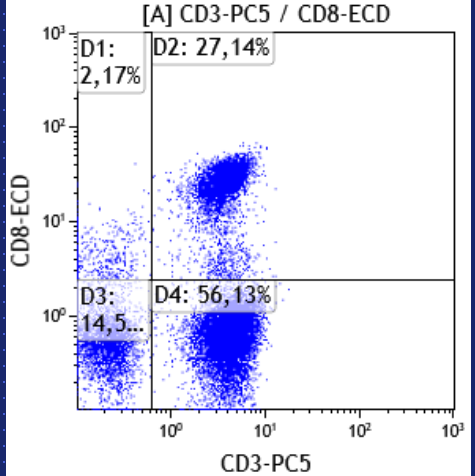
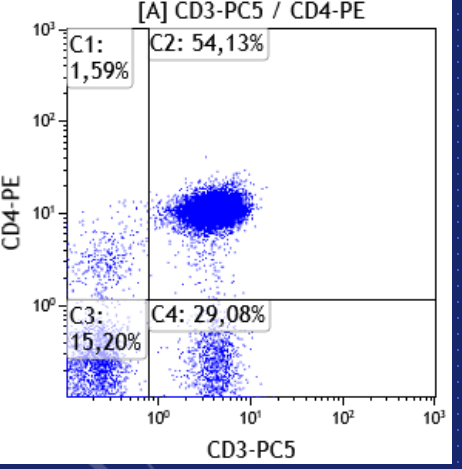


A novel ratio of CD8+:B-cells as a prognostic marker of coronavirus disease 2019 patient progression and outcome.

Maria. G. Detsika¹, Kleio Ampelakiotou², Eirini Grigoriou², Katherina Psarra², Edison Jahaj¹, Charis Roussos¹, Ioanna Dimopoulou¹, Stylianos E. Orfanos^{1,3}, Alexandra Tsirogianni², Anastasia Kotanidou¹.

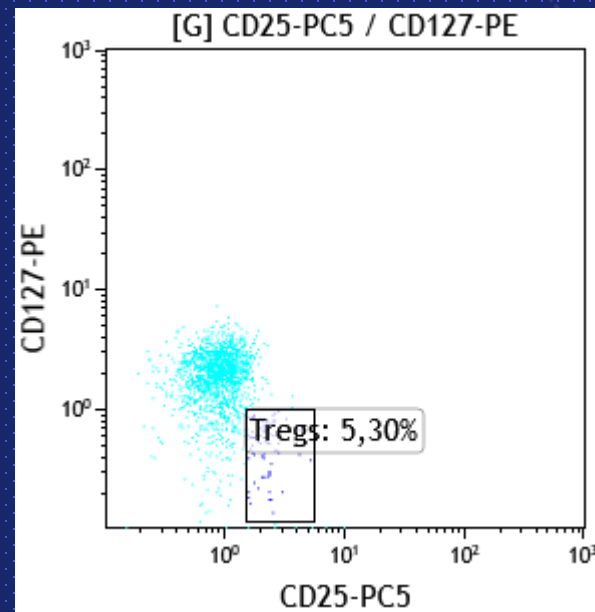
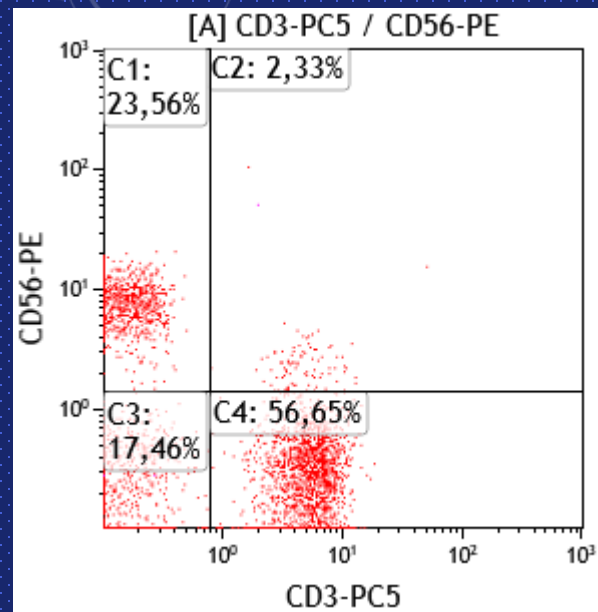
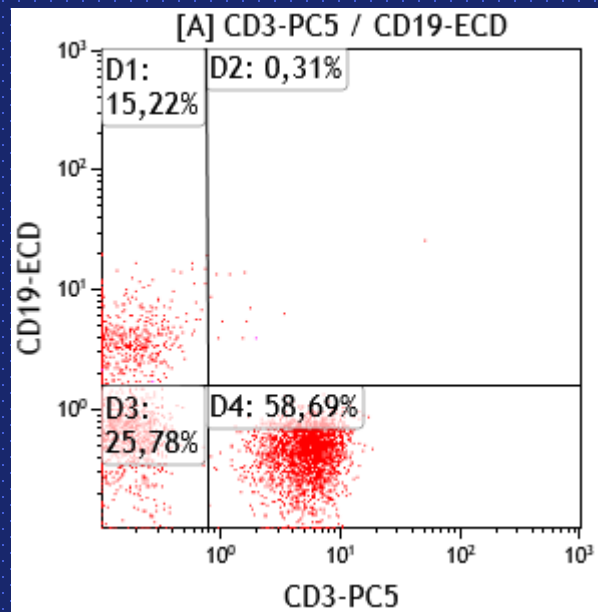


10/4
 CD3+ 196
 CD3+CD4+ 140
 CD3+CD8+ 63

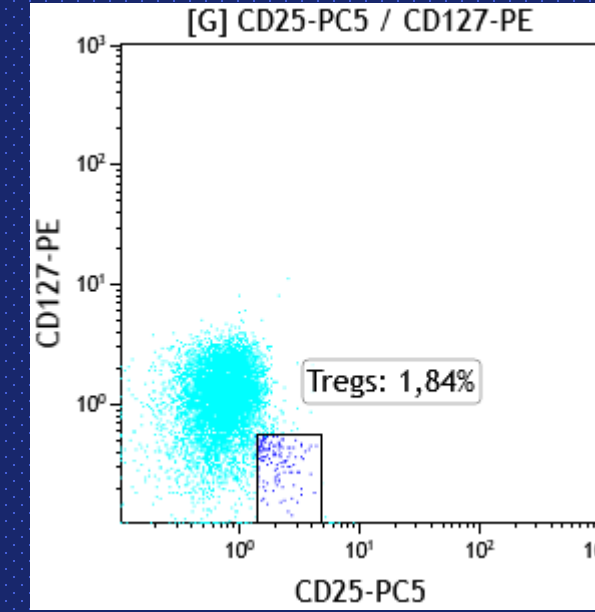
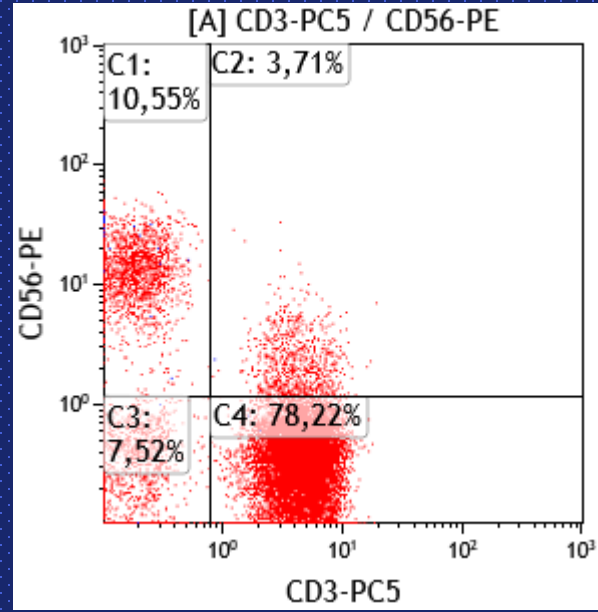
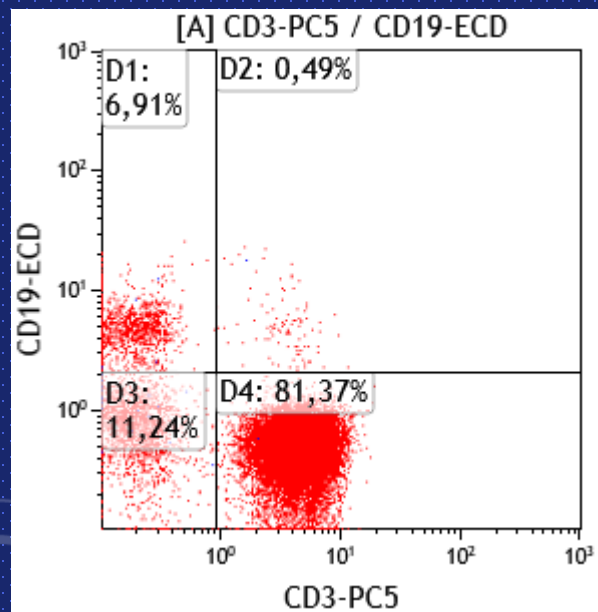


04/05
 CD3+ 1122
 CD3+CD4+ 730
 CD3+CD8+ 372

Δεδομένα από Ευαγγελισμό, Ανοσολογικό Εργαστήριο



10/4
 CD19+ 53
 CD3-CD56+ 83
 Tregs 6

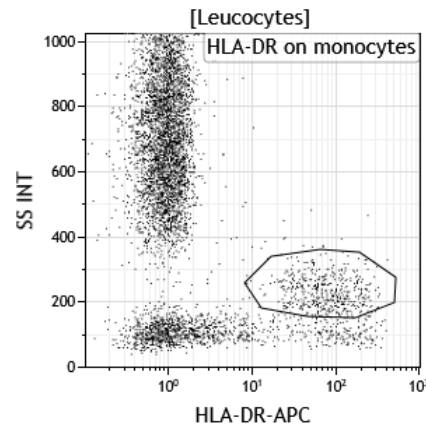


4/5
 CD19+ 97
 CD3-CD56+ 149
 Tregs 51

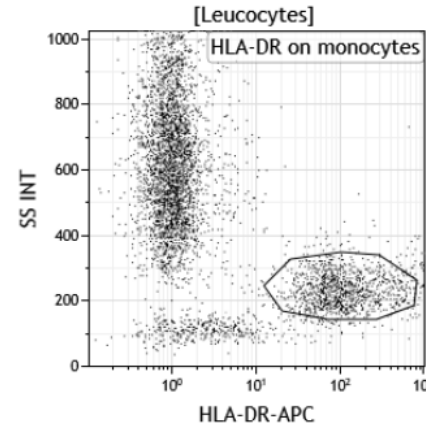


mHLA-DR for a snapshot of the immune status

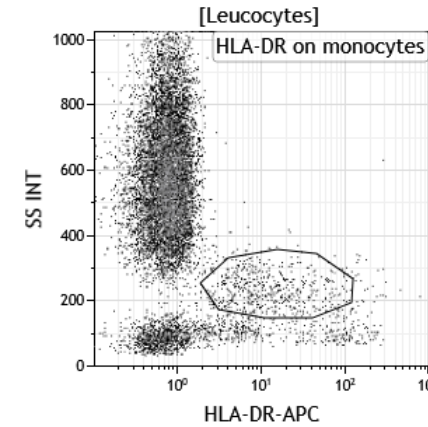
- HLA-DR monocyte expression provides a snapshot of the immune status after infection
- mHLA-DR levels increase immediately after infection, and subsequently decrease



Normal



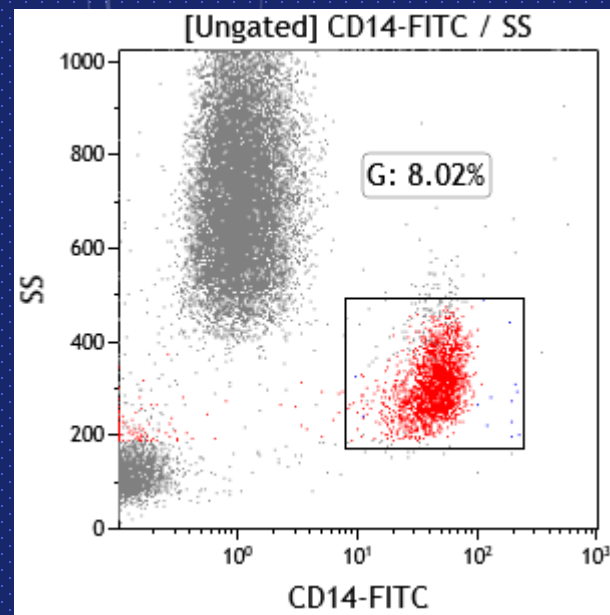
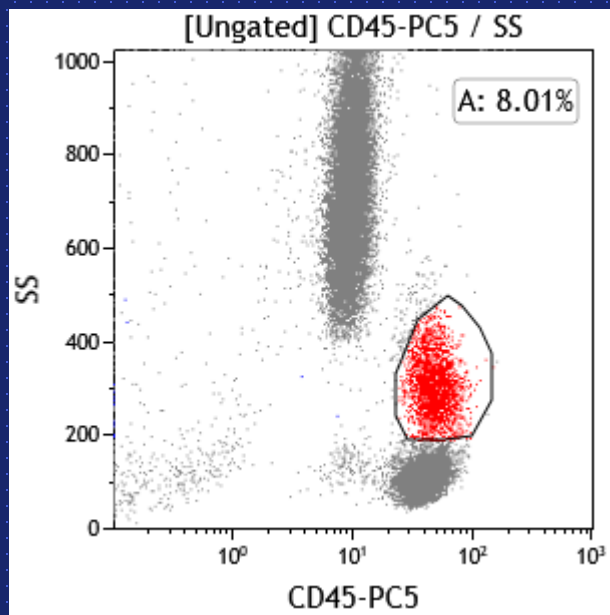
Recent stimuli
Increased HLA-DR



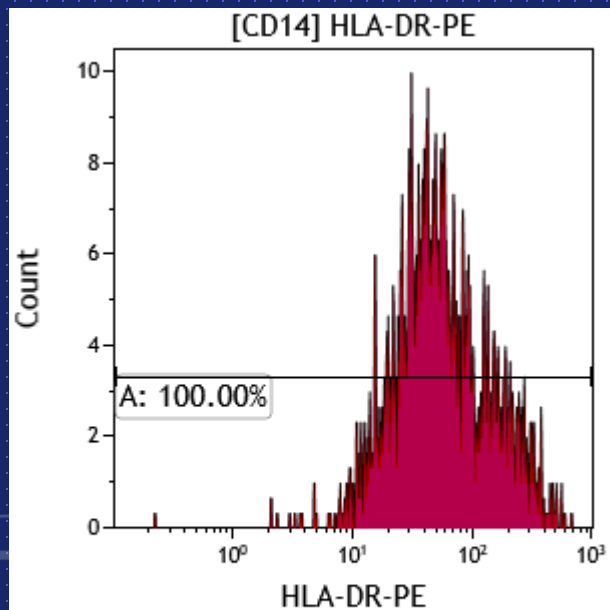
Immune Exhaustion
Decreased HLA-DR

Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

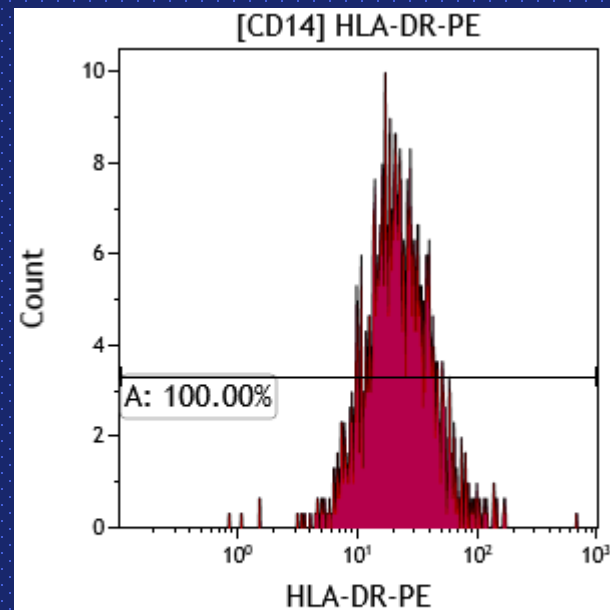
mCD169, nCD64 and HLA-DR allow visualization of the immune response to infection



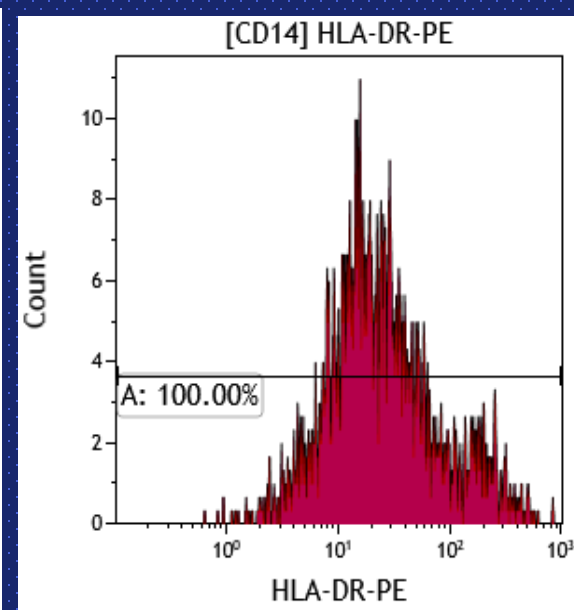
Δεδομένα από κλινικές μελέτες Δ' Παθ/κης Κλινικής Αττικού Νοσοκομείου



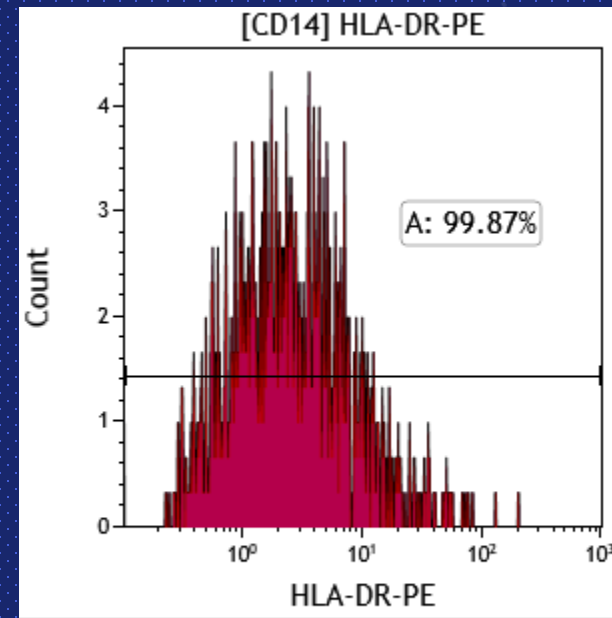
Gate X-Med	
All	50.88
A	50.88



Gate X-Med	
All	21.48
A	21.48



Gate X-Med	
All	22.03
A	22.03



Gate X-Med	
All	2.40
A	2.40

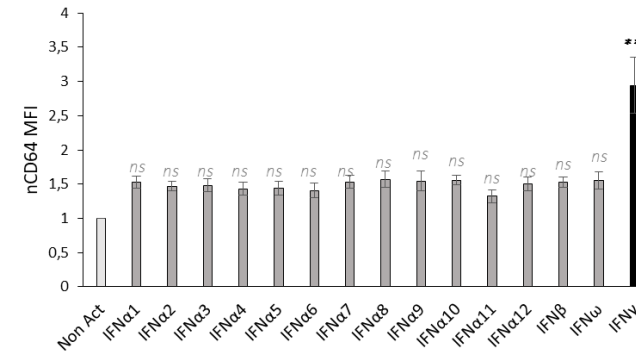
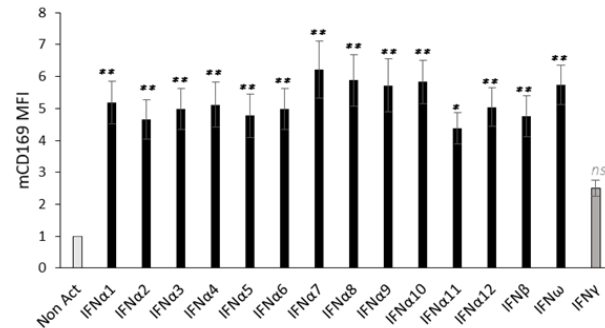
First impressions are important and often long-lasting

- **“Immune imprint of infection”** by activation of markers on the immune cells by the interferons and cytokines
- Activated myeloid cells as early differential markers of infection
- Example: Used in TB testing (Quantiferon) (memory T cells)

Type I (IFN α ,IFN β) → **CD169 (Monocyte)**

Type II (IFN γ) → **CD64 (Neutrophil)**

- mCD169: Receptor for viral proteins and lipids and marker for Type I IFN signal
- nCD64: established marker for bacterial infections and marker for Type II IFN signal



mCD169 is specifically upregulated by Type I IFN (IFN α , β)

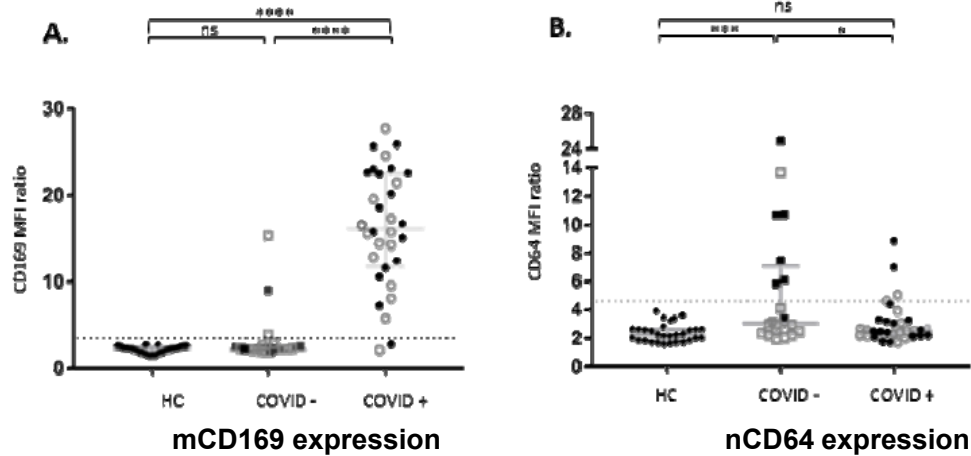
nCD64 is specifically upregulated by Type II IFN (IFN γ)

CD169, CD64 are differential markers of interferon response

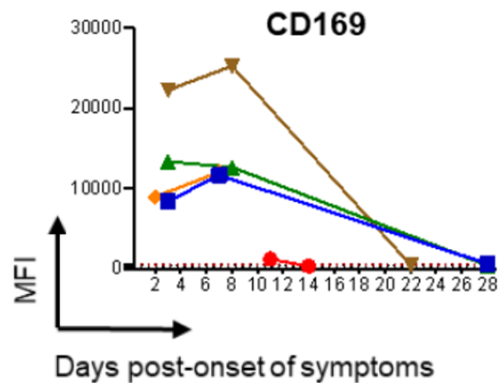




What about mCD169 in COVID?



Increase in monocyte CD169 in COVID +ve cases detected by flow cytometry



- Bedin, AS, et al. Monocyte CD169 expression as a biomarker in the early diagnosis of COVID-19. Preprint at *medRxiv*
- Vetter, P. et al Daily viral kinetics and innate and adaptive immune responses assessment in COVID-19: a case 1 series. Preprint at *medRxiv*
- Aschenbrenner, AC. et al. Disease severity-specific neutrophil signatures in blood transcriptomes stratify COVID-19 patients. Preprint at *medRxiv*

This article is a preprint and has not been peer-reviewed. It reports new medical research that has yet to be evaluated and so should *not* be used to guide clinical practice.

CD169 has been identified as biomarker in the early diagnosis of COVID-19





Visualizing immune response during infections

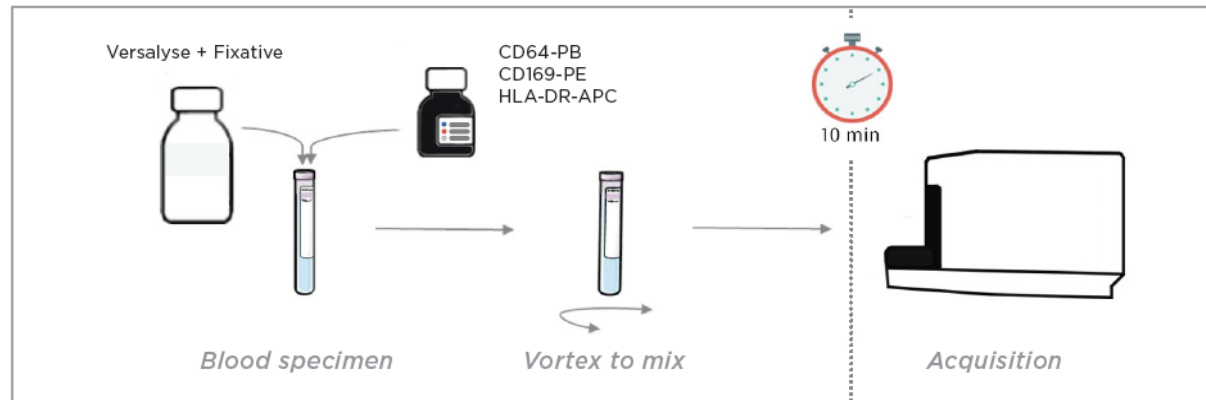
IOTest Myeloid Activation

CD169-PE/HLA-DR-APC/CD64-PB Antibody Cocktail, RUO

FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
	CD169				HLA-DR			CD64	

- Screen the immune response to infections
- Ready to use mix, pre-titrated
- Open channels for drop-ins
- Rapid (10 min), Easy to use

Bacterial Infection: nCD64 Overexpression
Viral Infection: mCD169 overexpression
Additional marker of Immune status:
Recent stimuli: increased HLA-DR,
Immune exhaustion: decreased HLA-DR



One step, no wash, no compensation



The background is a dark blue color with several faint, light blue technical diagrams. These include circular gauges with scales and arrows, and concentric circles with dashed lines. The text is centered in the upper half of the image.

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

B) ΛΕΜΦΟΪΠΕΡΠΛΑΣΙΕΣ

Ενδεικτικά διερευνητικά πρωτόκολλα για λεμφοϋπερπλασίες (ποια η σειρά προέλευσης των παθολογικών κυττάρων T ή B ή NK?)

CD2 – CD19 – CD45

CD3 – CD19 – CD45

Έλεγχος κλωνικότητας κ, λ αλυσίδων

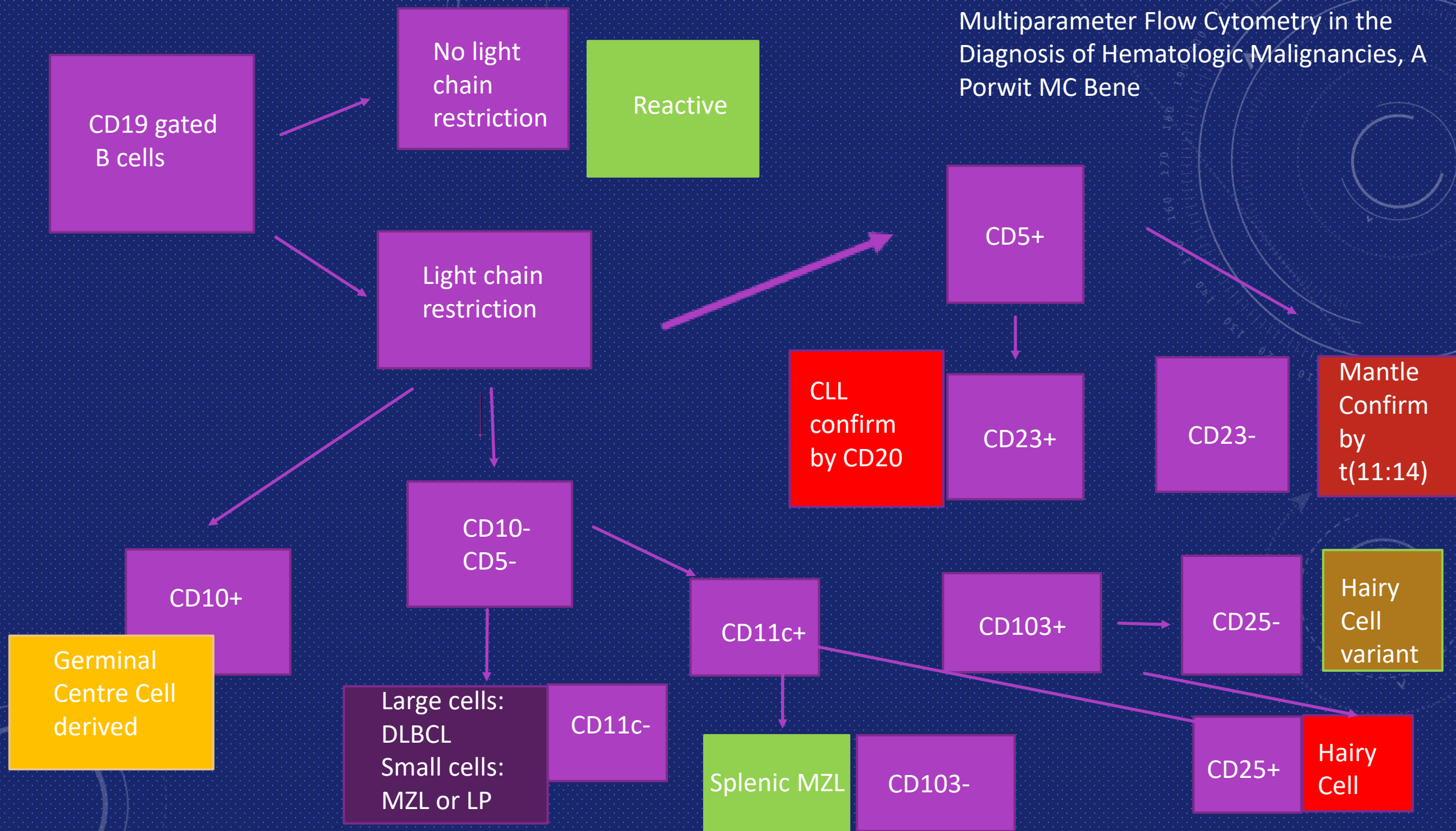
Γενικότερα διερευνητικά πρωτόκολλα

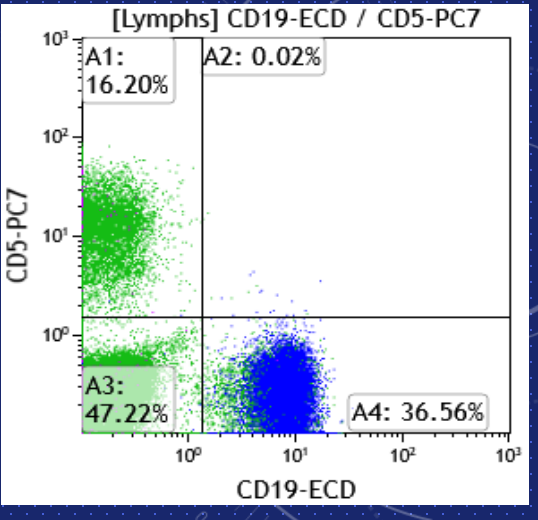
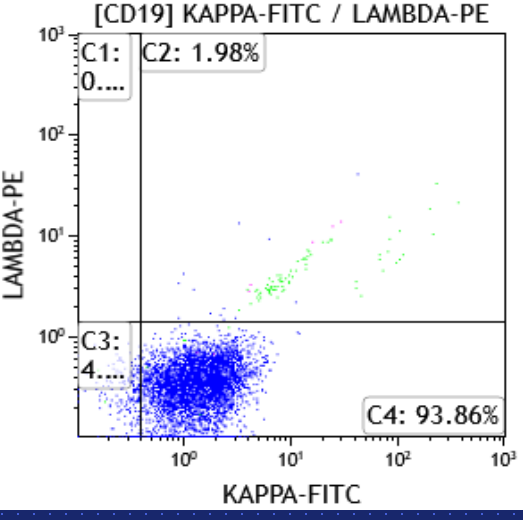
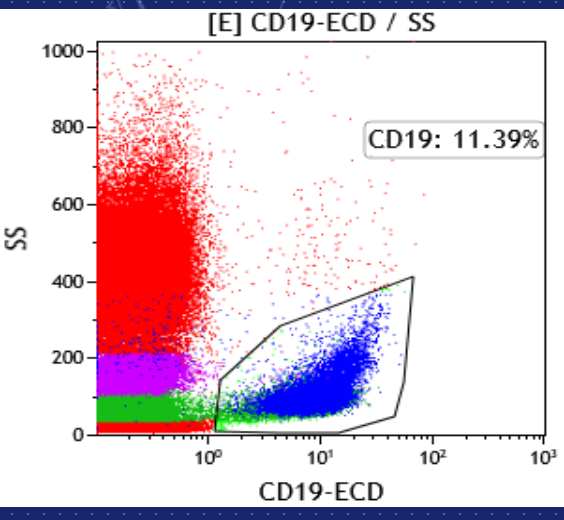
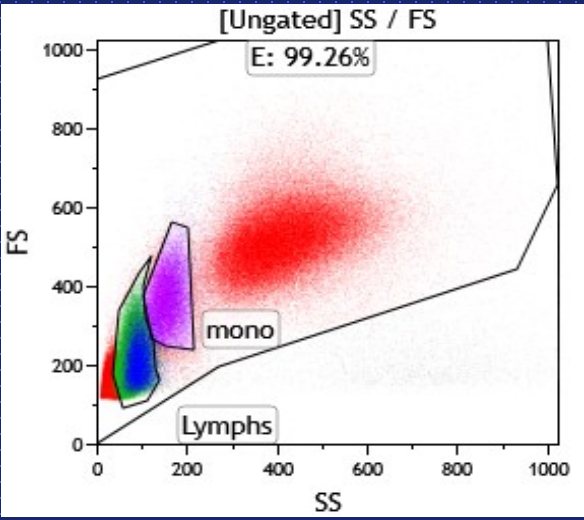
CD45, DR, CD3, CD5, CD4, CD8, CD19, CD10, CD20, CD22, κ, λ

CD45, DR, CD3, CD5, CD4, CD8, CD19, CD10, CD20, CD34, CD56, κ, λ

Πλήρης έλεγχος B : CD19, CD10, CD20, CD22, ROR1, FMC7, CD43, CD23, CD5, CD79b, CD200, CD38, CD25, CD11c, CD103 κ, λ, CD45 (δείκτες επιφανείας)

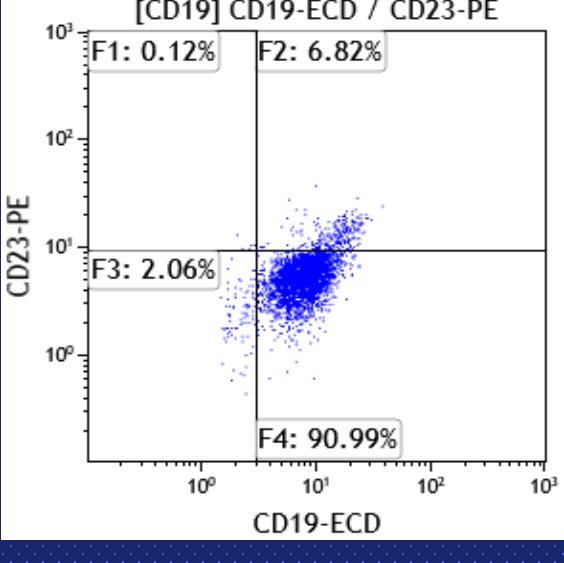
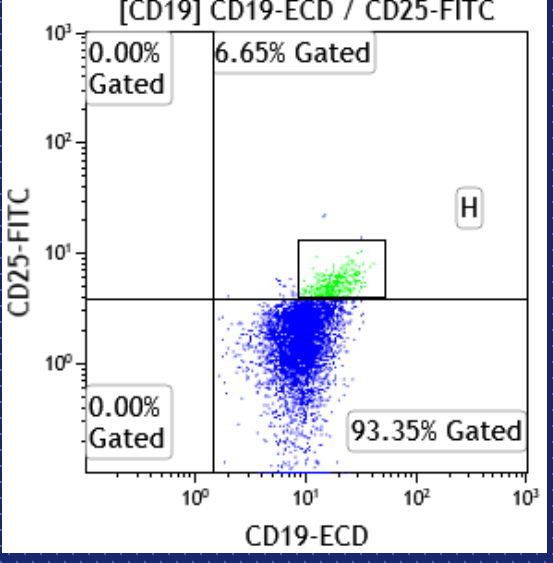
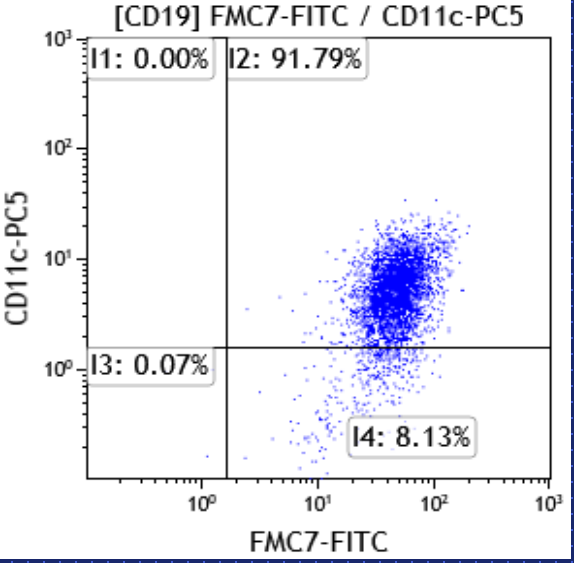
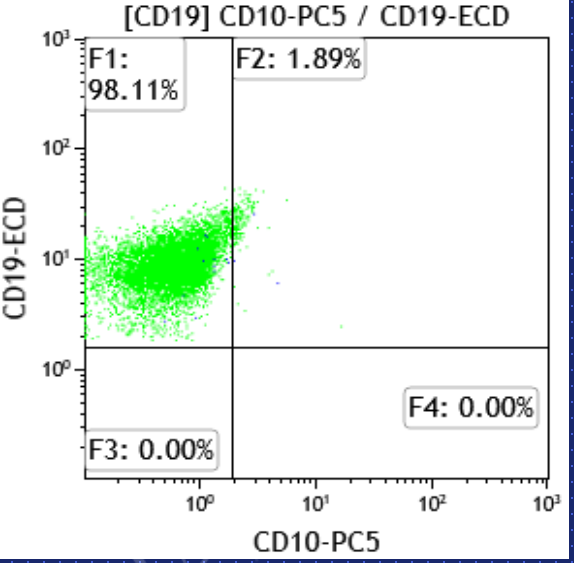
Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis of Hematologic Malignancies, A Porwit MC Bene

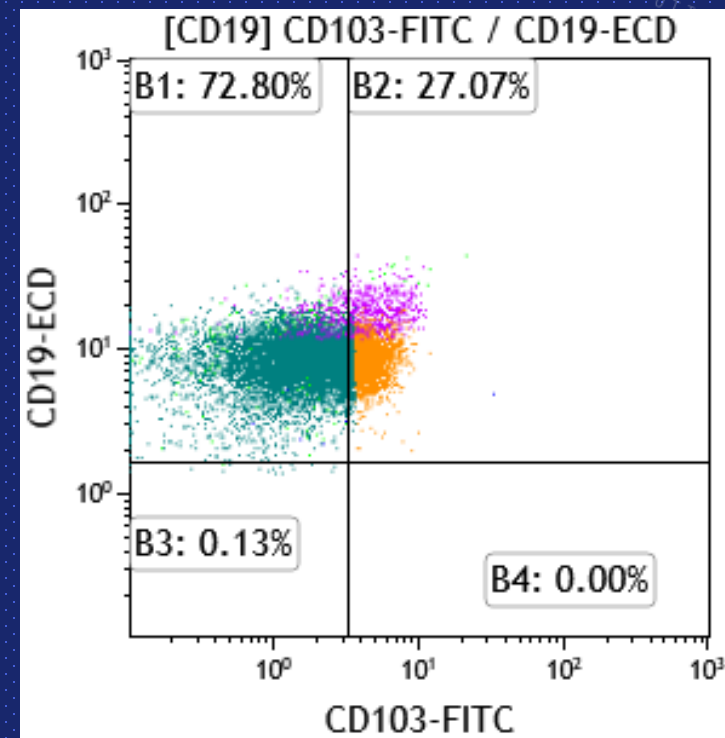
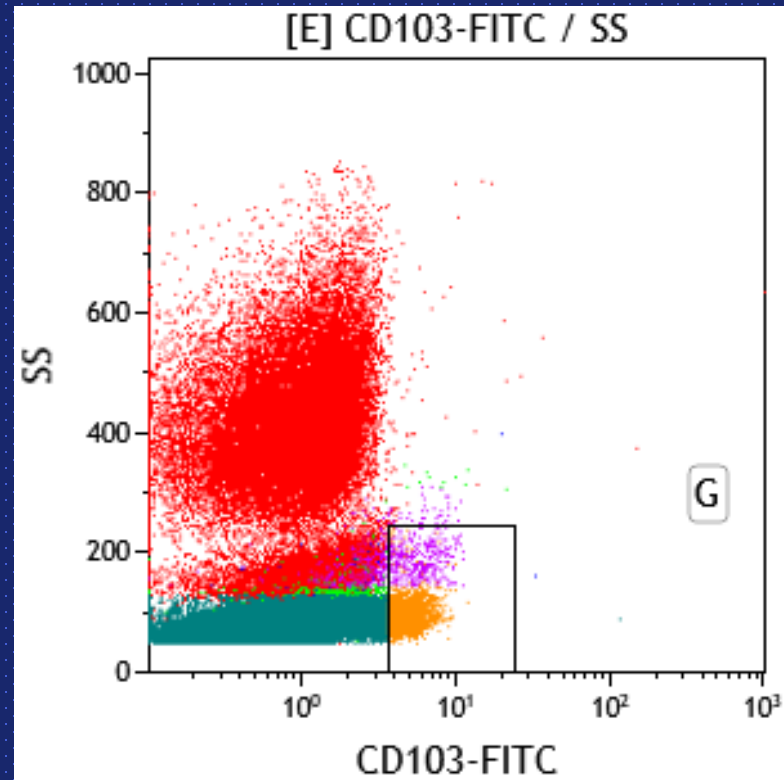
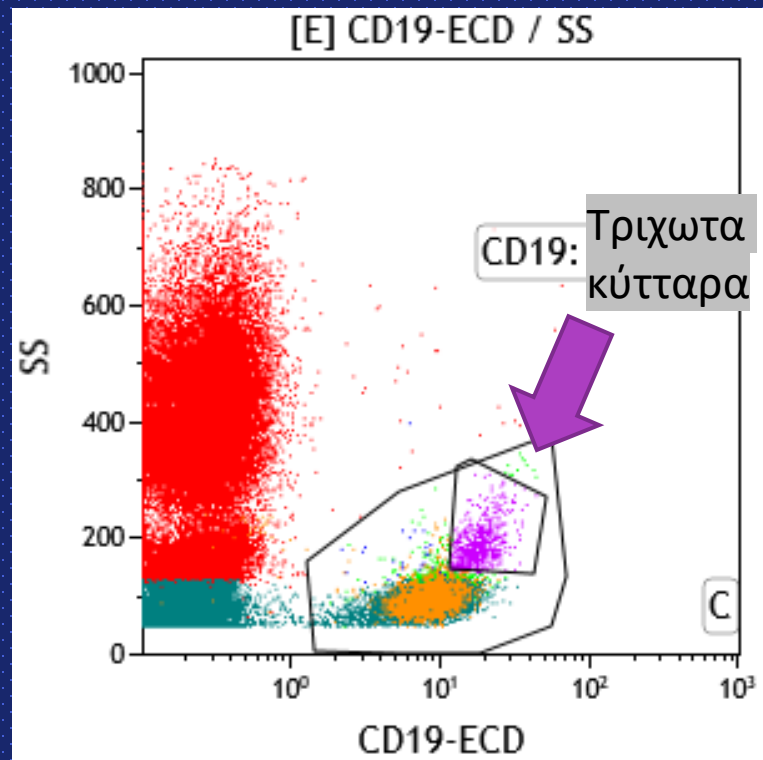




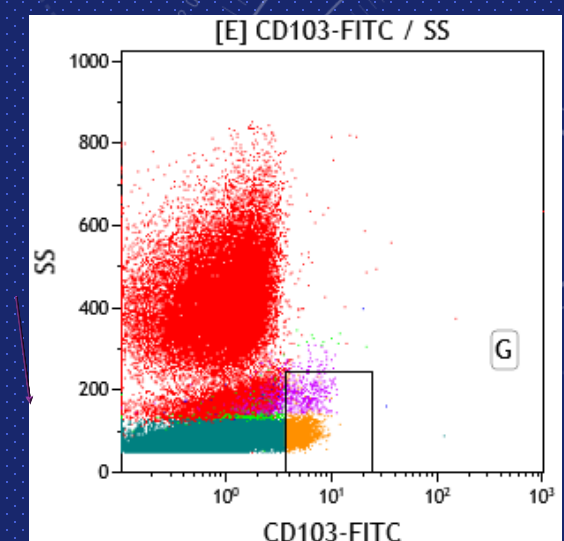
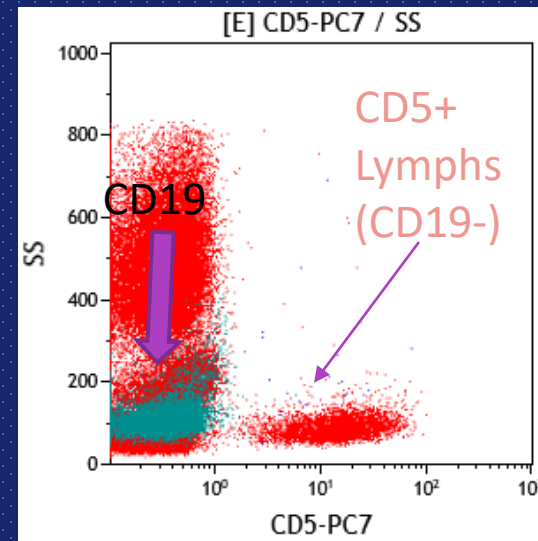
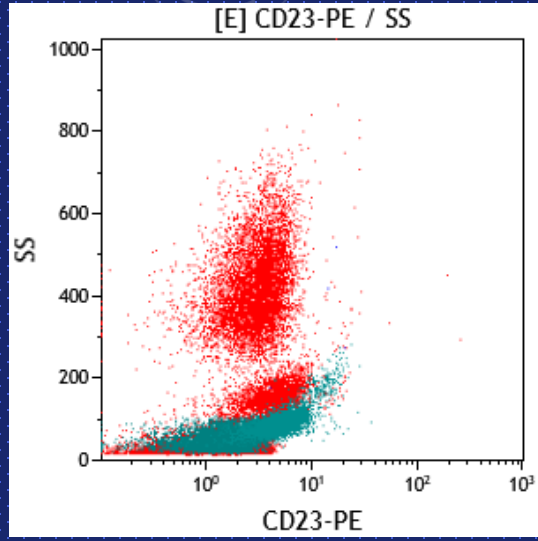
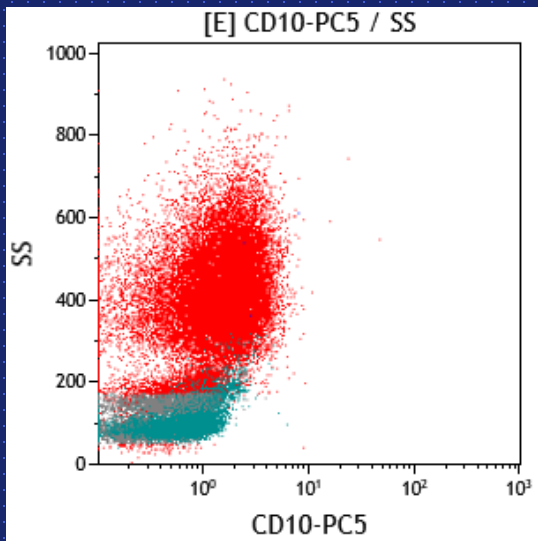
ΑΝΑΛΥΣΗ Β -ΛΕΜΦΟΪΠΕΡΠΛΑΣΙΑΣ

Τριχωτή Λευχαιμία?

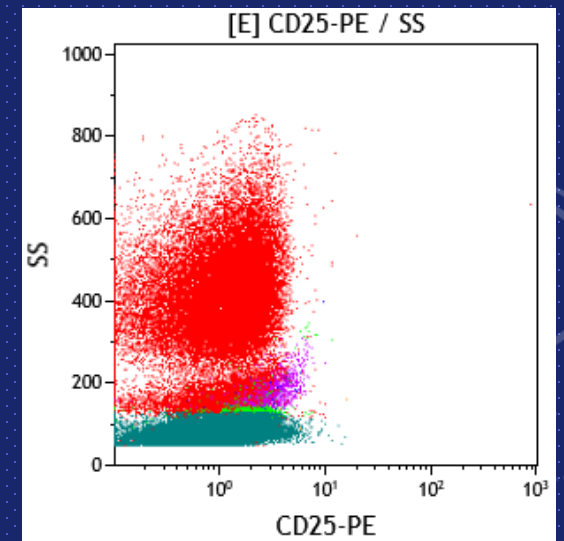
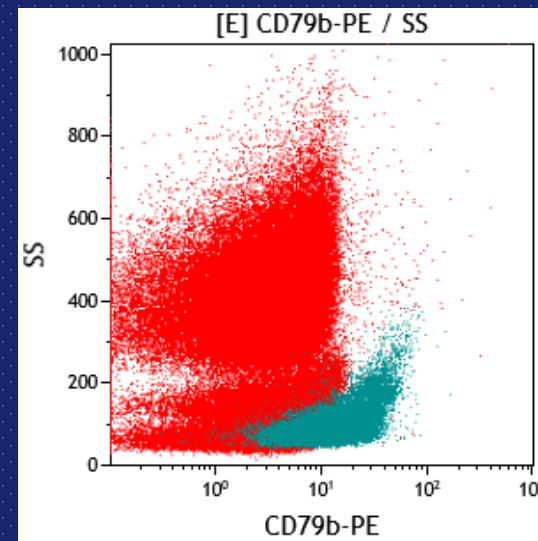
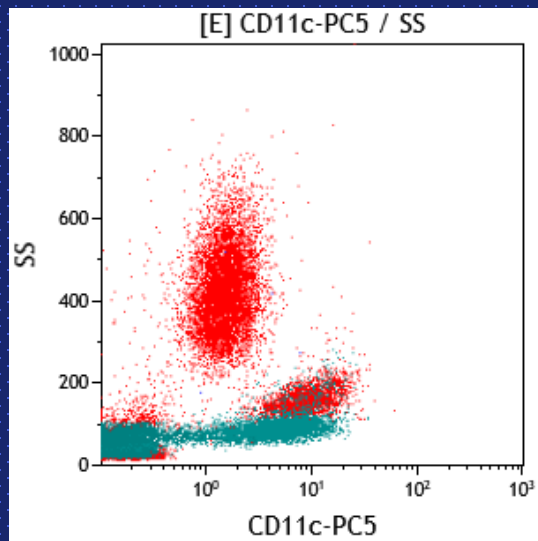
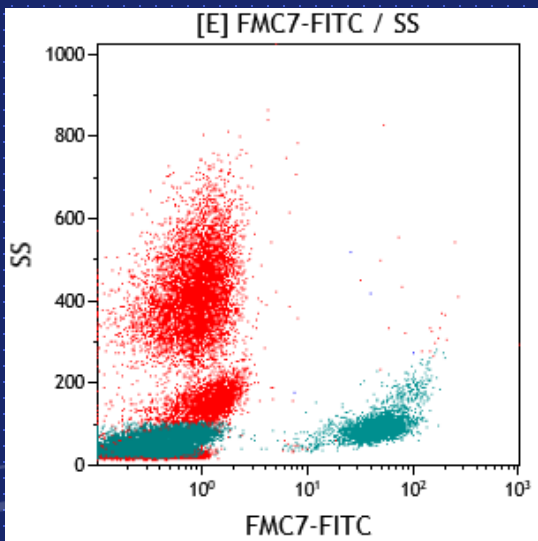




ΤΡΙΧΩΤΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ,
ΕΚΦΡΑΣΗ CD103+



Εκτίμηση ορίων θετικότητας με βάση το συνδυασμό SS/FL



Το υαλώδες υγρό ως δείγμα στην κυτταρομετρία ροής

VITREOUS AND AQUEOUS FLUID FLOW CYTOMETRY IN THE DIAGNOSIS OF OCULAR LYMPHOMA FOURTEEN YEARS OF EXPERIENCE

G. Paterakis, T. Papadaki, Markomichelakis N, P. Vasileiou

Βραβείο ESCCA

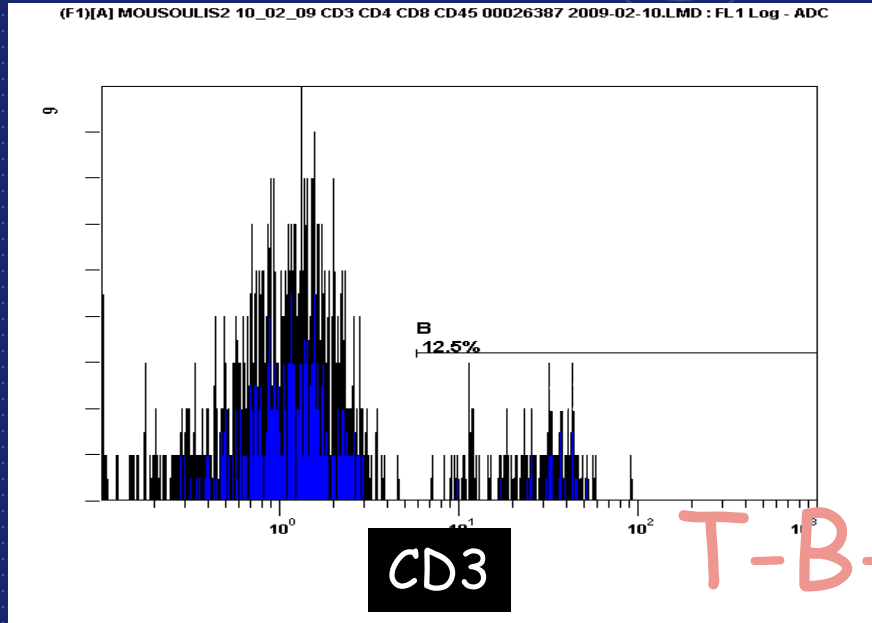
- Flow cytometry of VF/AF has to adjust to a **short and fragile sample** and face a **high noise to signal ratio**
- It is still considered an **ancillary** method to cytology, however it provides objective measurements leading to lymphoma verification
- PPV is an established and safe method to provide diagnostic material for PIOL. **A negative AF** is the rule for DLBCL PIOLs
- FC aims at scatter, clonality, phenotype and mitotic index measurements in order to **ensure diagnosis**

Flow cytometry proved sensitive and specific

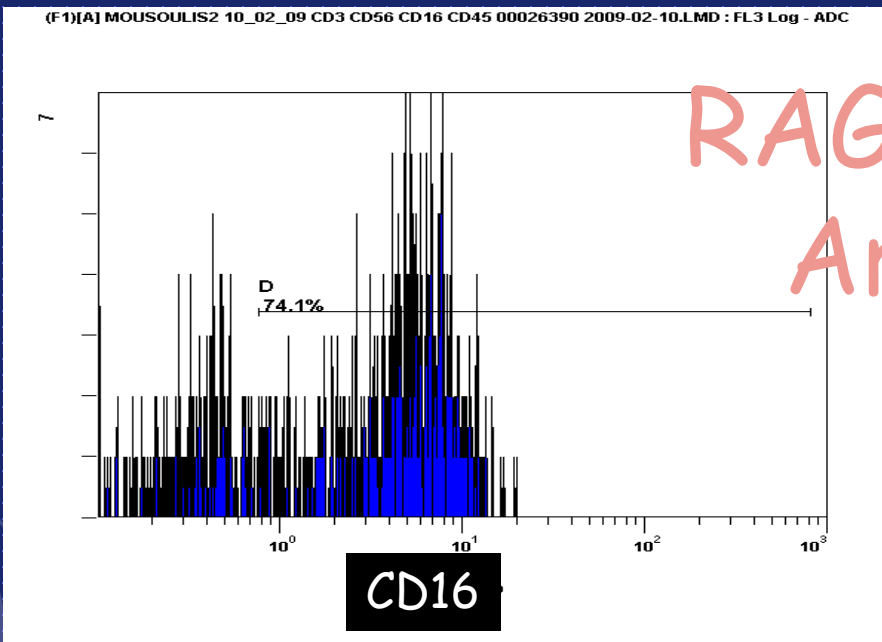
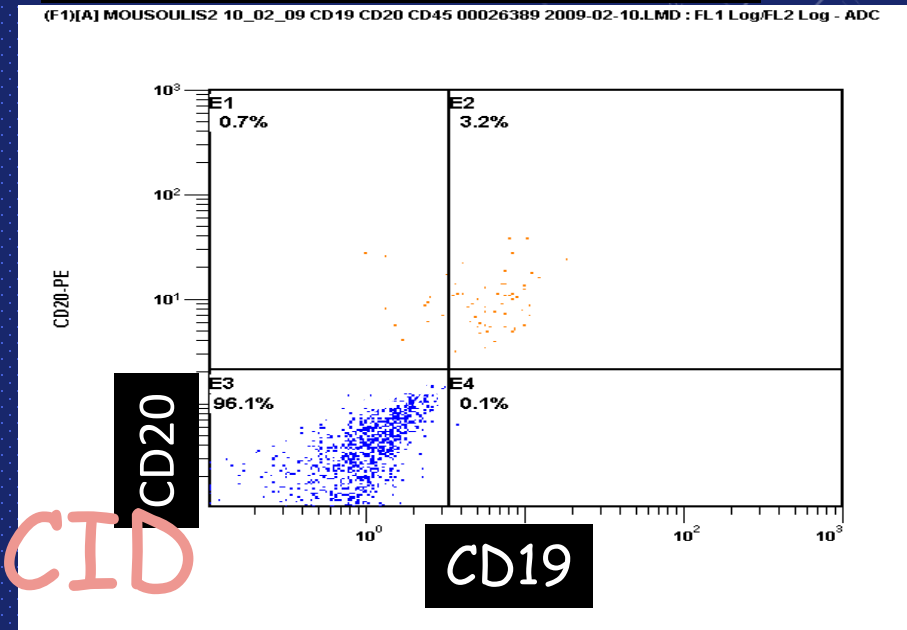
ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Γ) ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΕΣ

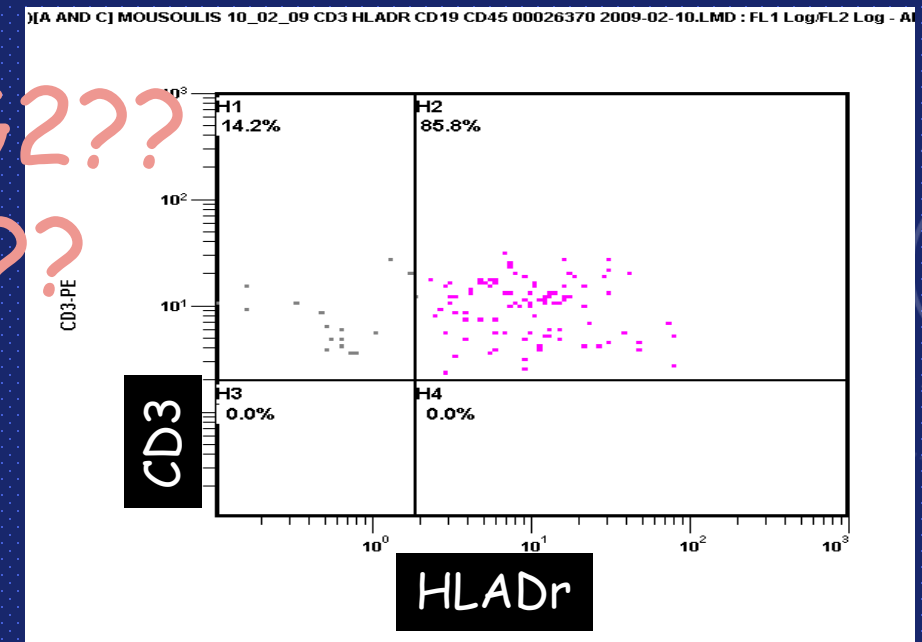
Η κυτταρομετρία ροής στην ανοσοανεπάρκεια



T-B-NK+ SCID



RAG1/RAG2??
Artemis??



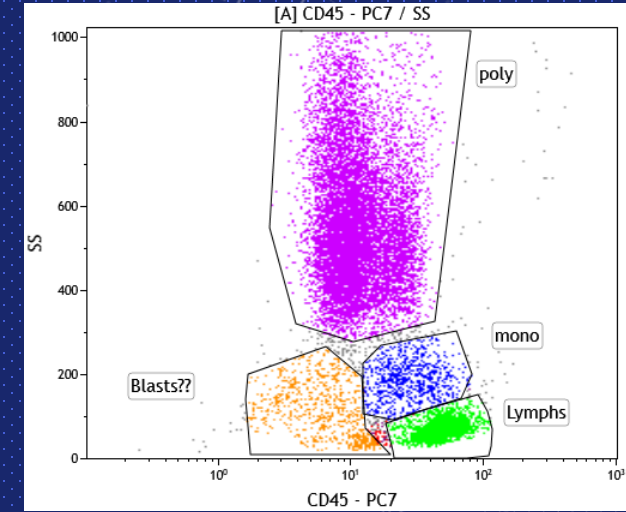
The background is a dark blue color with several faint, light blue technical diagrams. These include circular gauges with numerical scales (e.g., 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210) and arrows indicating rotation or flow. There are also dashed lines and solid lines forming various geometric shapes and patterns.

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

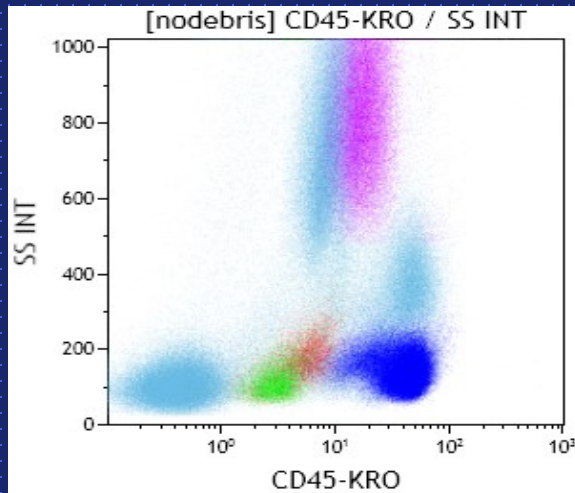
Δ) ΟΞΕΙΑ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Η κυτταρομετρία ροής στην οξεία λευχαιμία (ΟΛ)

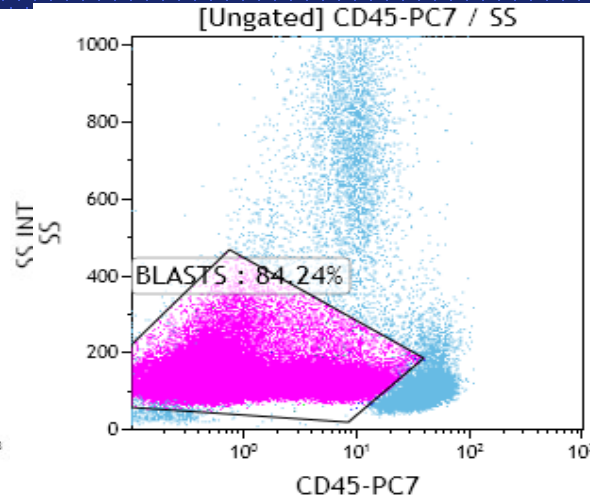
- Προσδιορισμός βλαστών SS/CD45, κύτταρα με ασθενή έκφραση CD45, οριοθέτηση και ποσοστό
- Τυποποίηση : τι δείκτες εκφράζουν? Ποιας σειράς? (μυελικής, λεμφικής, ερυθράς, μεγακαρυωτικής?)
- Έλεγχος δεικτών ωρίμανσης, επιφάνεια και κυτταροπλασματικά
- Ταξινόμηση ΟΛ (FAB, EGIL, WHO)
- Πρόγνωση ?



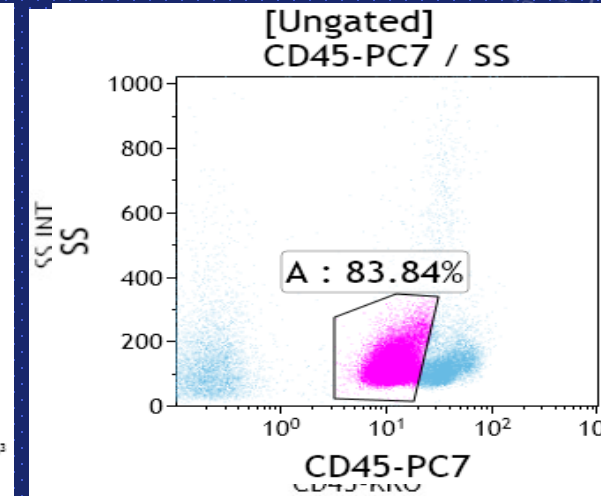
Αναγνώριση παθολογικού βλαστικού πληθυσμού



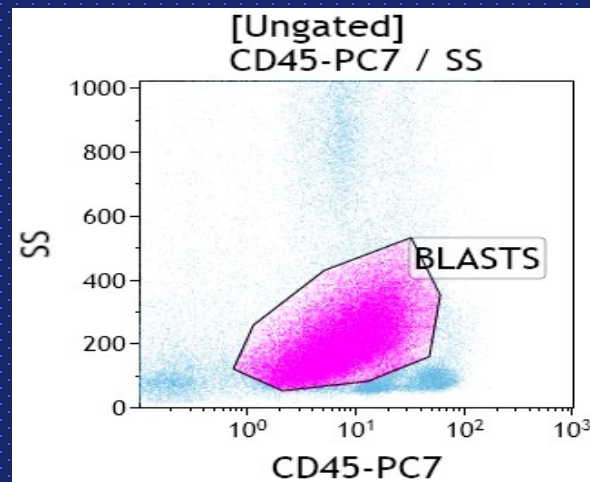
Φυσιολογικός Μυελός των Οστών



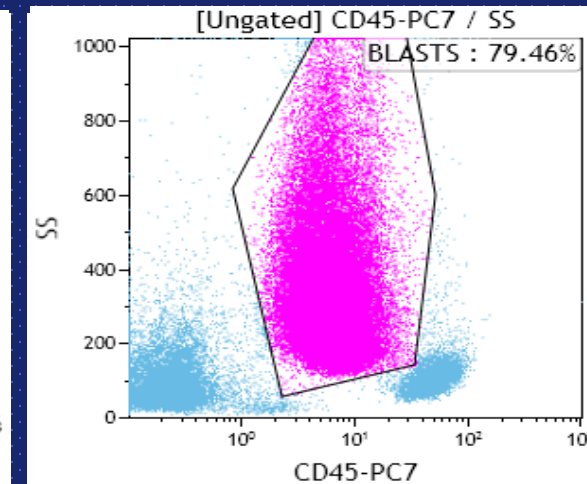
Συνήθης θέση Β ΟΜΛ



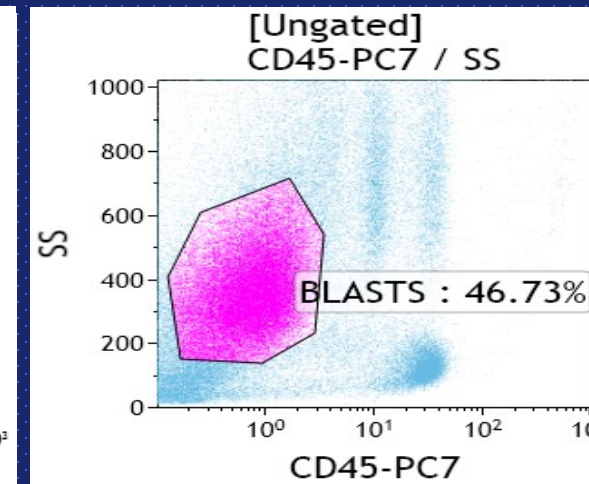
Συνήθης θέση Τ ΟΜΛ



Συνήθης θέση ΟΜΛ Μ0-Μ2, Μ4



Συνήθης θέση ΟΜΛ Μ3



Συνήθης θέση μη
αιματολογικών κακοηθειών και
ΟΜΛ Μ6-Μ7

Έκφραση δεικτών για την διάγνωση της ΟΜΛ

Δείκτες αωρότητας: CD34, CD133, CD38, HLA-DR

- **cyMPO**: ο πιο ειδικός δείκτης της μυελικής σειράς

- **CD117** : δείκτης που χαρακτηρίζει τα άωρα κύτταρα της μυελικής αλλά εκφράζεται και στα μαστοκύτταρα και σπάνια στις T-ΟΛΛ

- **CD13, CD33**: δείκτες της μυελικής σειράς , μπορεί να εκφράζονται άτυπα σε βλαστικά κύτταρα της Β σειράς.

- **CD15, CD65**: δείκτες που εκφράζονται στα ώριμα κύτταρα της μυελικής σειράς

- **CD14, CD64, CD35, CD36, IREM2, cyLysozyme** : δείκτες που χαρακτηρίζουν την μονοκυτταρική σειρά. Ο δείκτης CD14 συνήθως δεν εκφράζεται στους μονοβλάστες, ενώ ο δείκτης CD64 εκφράζεται ασθενώς στα ουδετερόφιλα και έντονα στα μονοκύτταρα.

- **CD11c, CD11b**: μόρια προσκόλλησης που εκφράζονται στα ώριμα κύτταρα της μυελικής και μονοκυτταρικής σειράς.

- **CD123**: δείκτης που εκφράζεται στα ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μεγακαρυοκύτταρα, βασεόφιλα και στα pDC bright

- **CD16** : εκφράζεται στα ουδετερόφιλα

- **CD36, CD71, CD235a** : Δείκτες που χαρακτηρίζουν την ερυθρά σειρά

- **CD61, CD41, CD42** : Δείκτες που χαρακτηρίζουν την μεγακαρυοκυτταρική σειρά

Καθορισμός Βαθμού Ωρίμανσης Ταξινόμηση ΟΜΛ

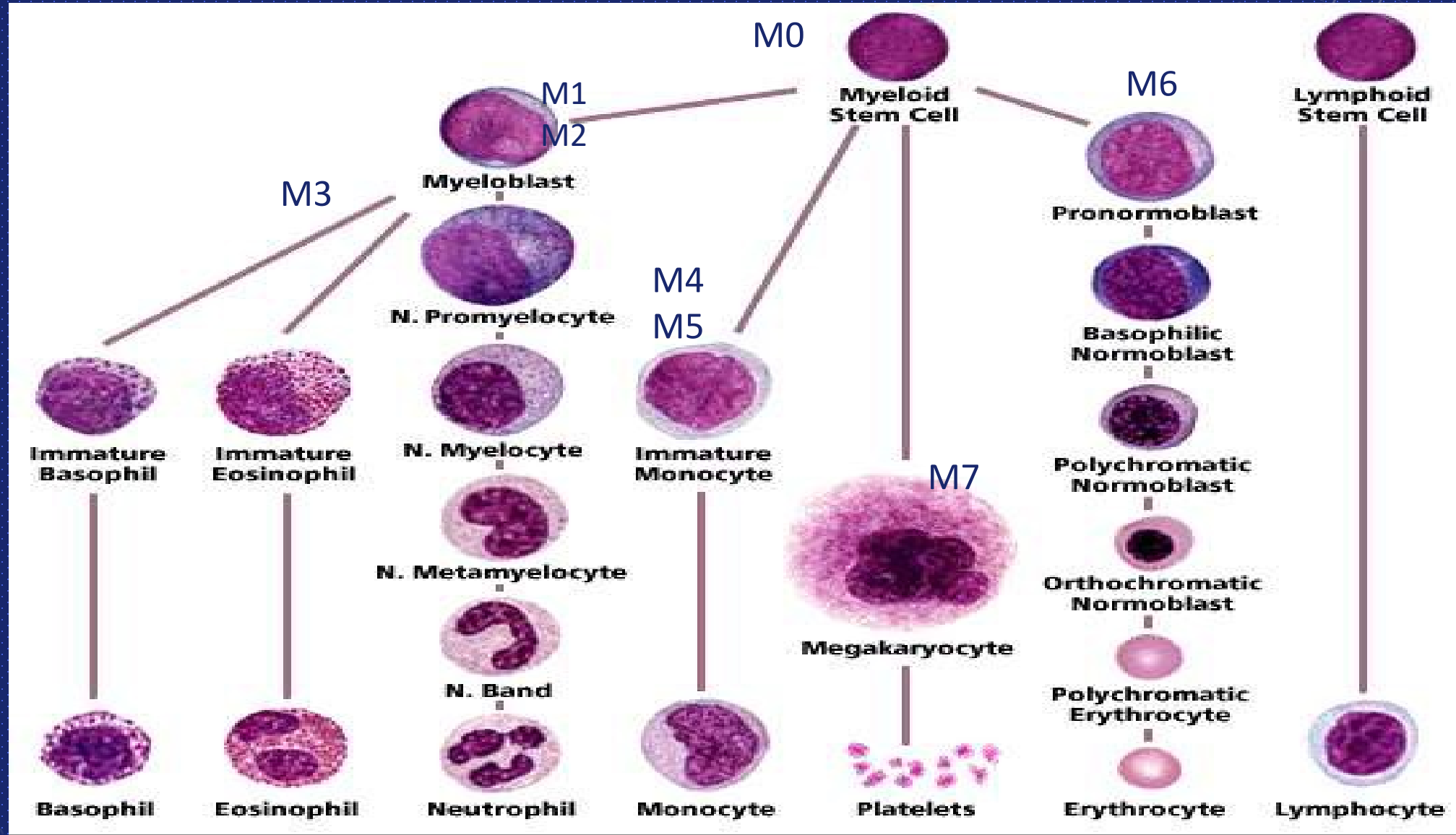
Κατά FAB

Συνήθης Ανοσοφαινότυπος

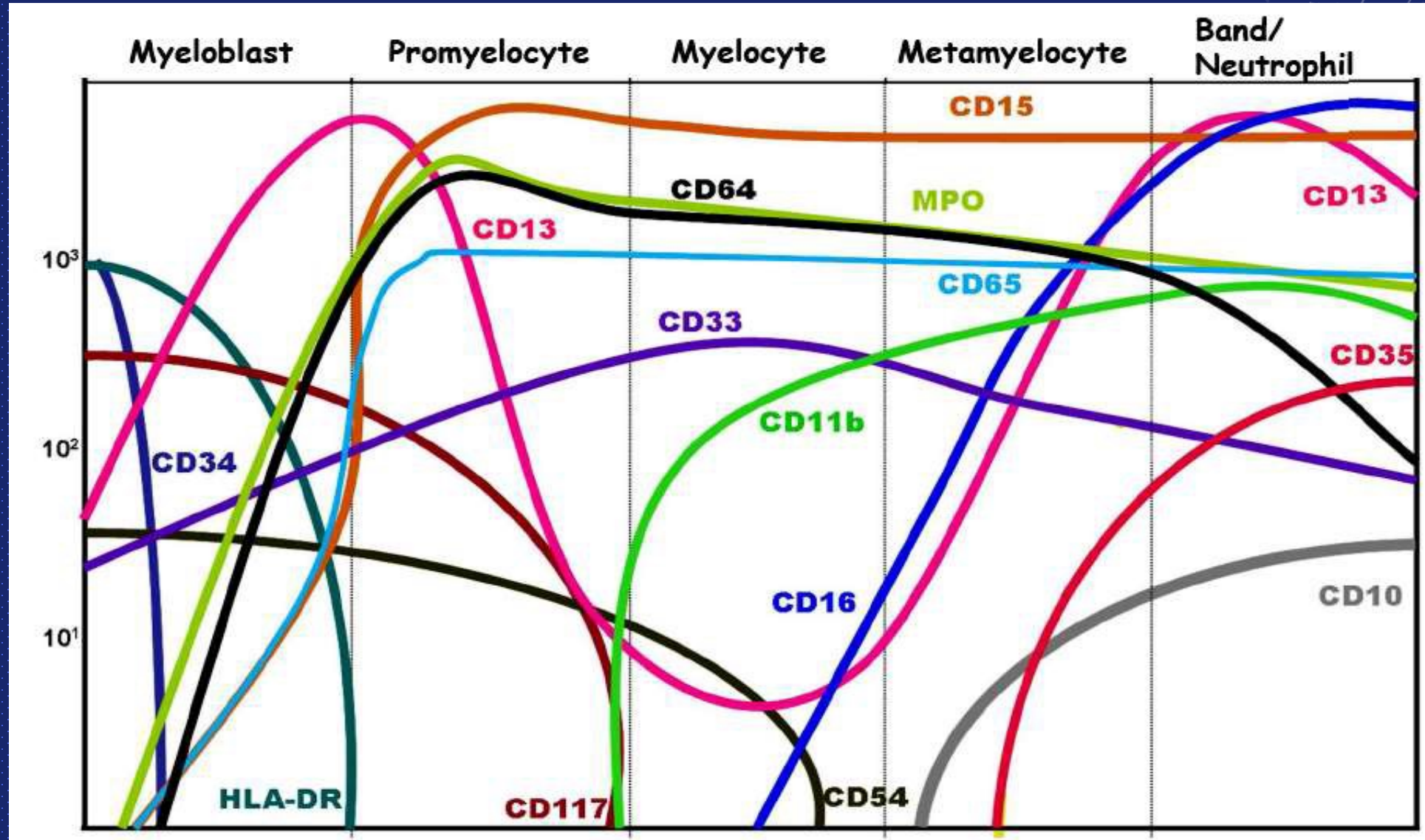
M0	ΟΜΛ με ελάχιστη διαφοροποίηση	MPO- CD34+ CD133+ CD13+ CD33+ HLADR+
M1	ΟΜΛ χωρίς ωρίμανση	MPO+ CD34+/- CD117+ CD13+ CD33+
M2	ΟΜΛ με ωρίμανση	MPO+ CD34+/- CD117+/- CD13+ CD33+ CD15+ CD11b+
M3	Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία	MPO+++ CD33+++ HLADR- CD34- CD15- CD11b- (CD2+ σε variant μικροκοκκιώδη μορφή)
M4	Οξεία Μυελομονοκυτταρική	Σαν M2 + 20% μονοβλαστών (CD64+++ , CD4+ , CD11c+).
M5	Οξεία Μονοκυτταρική	CD64+++ , CD4 , CD11b++ , CD11c+ , HLADR++ , CD36+ , CD14+/-
M6	Οξεία ερυθρολευχαιμία	>50% CD34+ CD117+ CD71+++ CD235+
M7	Οξεία Μεγακαρυοβλαστική	CD34+ CD117+ cCD41+ cCD61+ CD42

ΌΧΙ πάντα απόλυτη συσχέτιση!!

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ FAB, ΒΑΣΙΖΕΤΑΙ ΚΥΡΙΩΣ ΣΤΗΝ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΧΗΜΕΙΑ

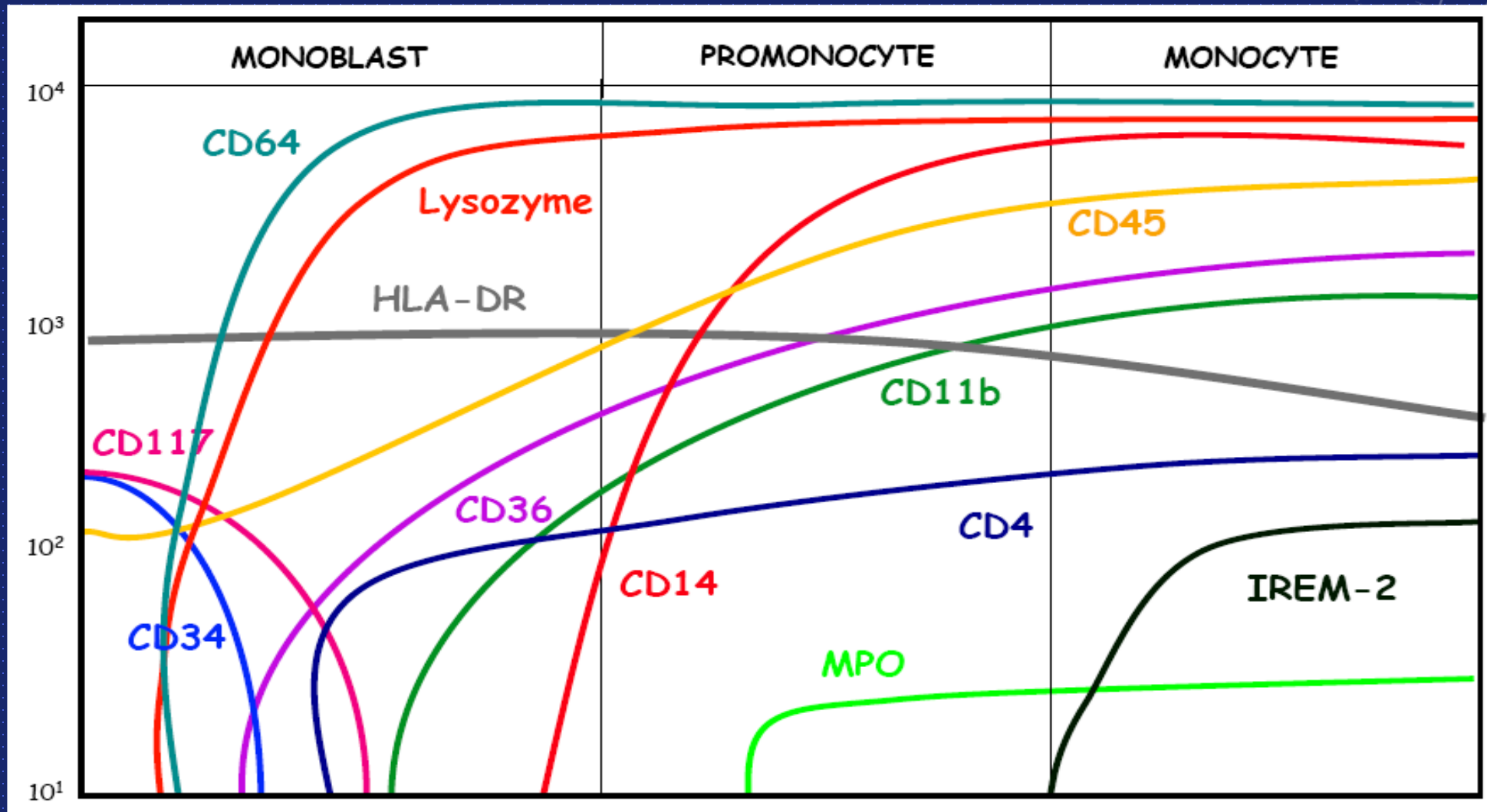


Δείκτες κατά την φυσιολογική διαφοροποίηση της μυελικής σειράς



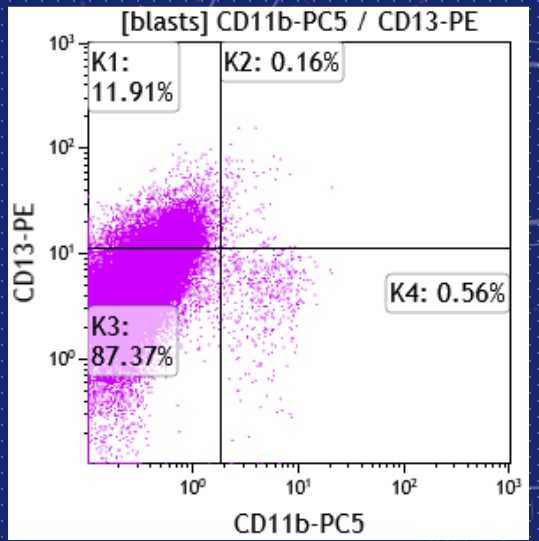
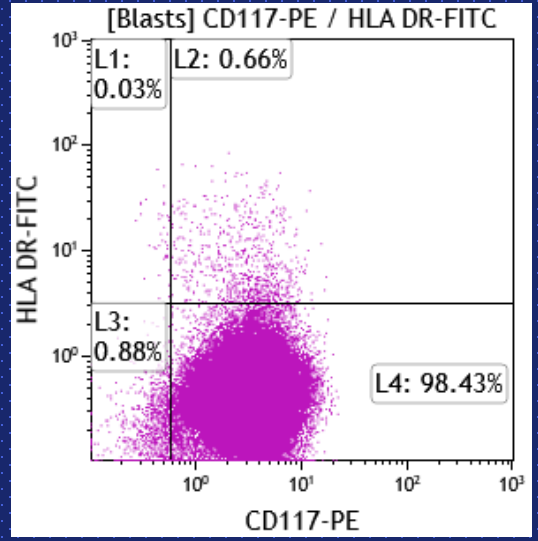
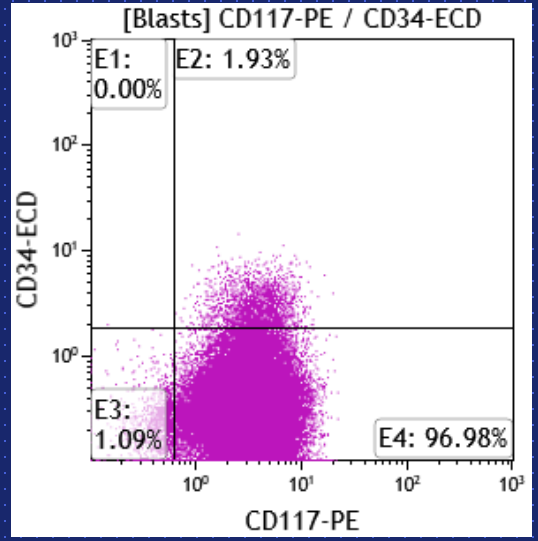
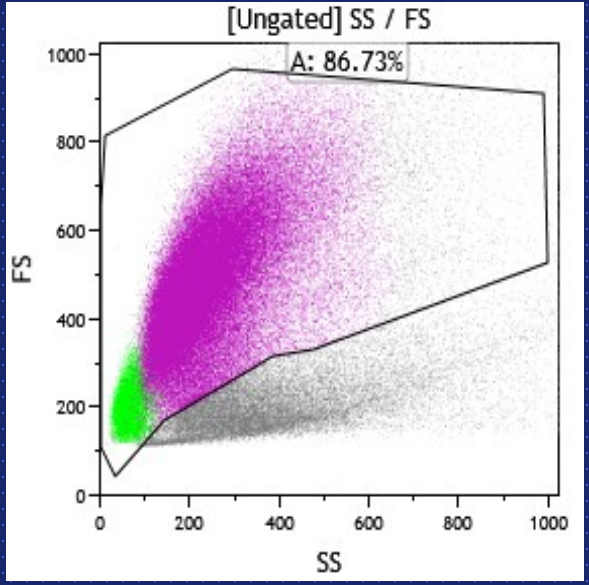
Καθορισμός Βαθμού Ωρίμανσης

Δείκτες κατά την φυσιολογική διαφοροποίηση της μονοκυτταρικής σειράς

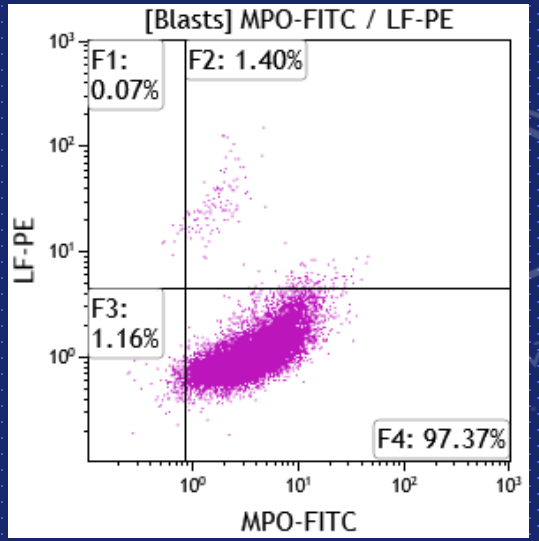
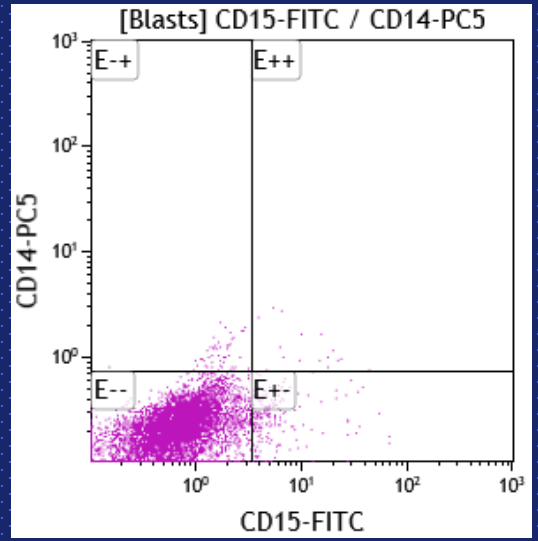
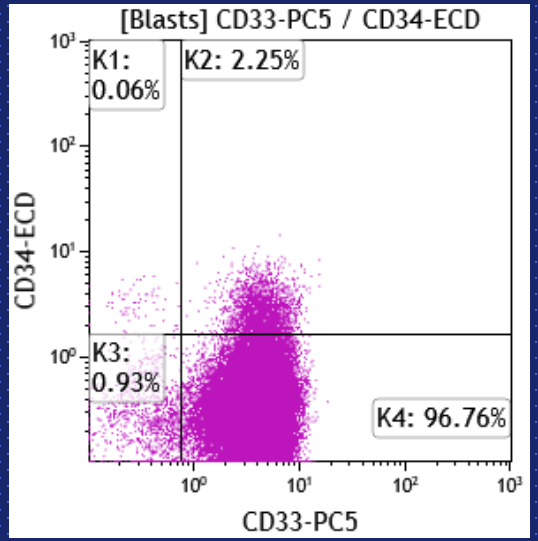
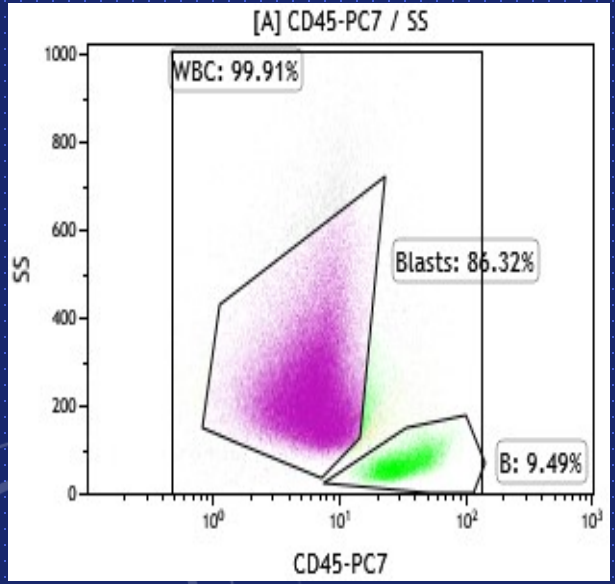


Μονοβλάστες : CD64+ CD36+ CD11b+ CD4+ **CD14 - IREM2 - MPO -**
 Προμονοκύτταρα : CD64++ CD36+ CD11b+ CD4+ **CD14 + IREM2 - MPO dim**
 Μονοκύτταρα : CD64++ CD36+ CD11b+ CD4+ **CD14 + IREM2 + MPO dim**

Ανάλυση οξείας Λευχαιμίας



MPO+++ CD33+++ HLADR- CD34- CD15- CD11b- M3



• Σπάνιες λευχαιμίες

Οξεία αδιαφοροποίητη λευχαιμία (Acute undifferentiated leukemia, AUL) : τα λευχαιμικά κύτταρα δεν εκφράζουν κανένα ειδικό δείκτη διαφοροποίησης προς συγκεκριμένη σειρά.
(CD34+ HLA-DR+ CD38+/- lineage -)

Οξεία λευχαιμία με μικτό φαινότυπο (Mixed phenotype acute leukemia, MPAL) : τα λευχαιμικά κύτταρα εκφράζουν δείκτες περισσότερων της μίας σειράς (μυελική+B-λεμφική, μυελική+T-λεμφική, μυελική+B-λεμφική+T-λεμφική) και μπορεί να είναι

- **Δικλωνικές** : δύο οι περισσότεροι βλαστικοί πληθυσμοί από διαφορετικές σειρές ή
- **Διφαινοτυπικές** : ένας βλαστικός πληθυσμός που εκφράζει δείκτες από διαφορετικές σειρές στο ίδιο κύτταρο

Οξεία Λευχαιμία με μικτό φαινότυπο και t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1

- **Οξεία Λευχαιμία με μικτό φαινότυπο και t(v;11q23); MLL rearranged**

ΣΥΝΕΚΤΙΜΗΣΗ για διάγνωση και θεραπεία

ΕΚΦΡΑΣΗΣ , ΣΥΝΕΚΦΡΑΣΗΣ ή ΑΠΟΥΣΙΑΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΔΕΙΚΤΩΝ στο σύνολο αλλά και ειδικών για διαφοροδιάγνωση

ΠΟΣΟΣΤΩΝ, ΑΠΟΛΥΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ (πχ Β ΚΥΤΤΑΡΩΝ, ΧΛΛ ή ΜΒΛ, CD4 για αντιρετροϊκή θεραπεία, CD34+ στη μεταμόσχευση μυελού), ΕΝΤΑΣΗΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ (συσχετίζεται με το νόσημα και το βαθμό κυτταρικής ωρίμανσης)

Αποτελεσμάτων από βιοψία, μοριακές και κυτταρογενετικές εξετάσεις όπου απαιτούνται

Μελέτες συσχέτισης ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών με γενετικές διαταραχές
HLA-DR- CD34- (CD56+CD123+CD133-), + Μορφολογία + αρνητικός καρυότυπος FLT3-ITD+
CD34- CD117+ CD13+CD15+CD33++ CD123+ HLA-DR+/- **NPM1+**

Έκθεση αποτελέσματος σε μια ΟΛ

Όνοματεπώνυμο, ηλικία, φύλο του ασθενούς, ημερομηνία παραλαβής του δείγματος

Είδος δείγματος (μυελός, περιφερικό αίμα κλπ), χρονική στιγμή (διάγνωση, παρακολούθηση)

Πληροφορίες από το ιστορικό, την κλινική εικόνα, την μορφολογία, τις υπόλοιπες εργαστηριακές εξετάσεις (αν έχουν δοθεί)

Πληροφορίες για την ακεραιότητα, την σύσταση και την βιωσιμότητα των κυττάρων του δείγματος

- Ποσοστό % των βλαστών στο σύνολο των εμπυρήνων κυττάρων του δείγματος
- Αναφορά των δεικτών που εκφράζει ο παθολογικός πληθυσμός
- ✓ Αναφέρονται πρώτα οι δείκτες που χαρακτηρίζουν την σειρά και το στάδιο διαφοροποίησης και ωρίμανσης του βλαστικού πληθυσμού, οι δείκτες αωρότητας (αν εκφράζονται) και τέλος τυχόν δείκτες από άλλη σειρά ή δείκτες που σχετίζονται με συγκεκριμένη γενετική διαταραχή ή με την πρόγνωση.
- ✓ Θα πρέπει να αναφέρεται η ένταση της έκφρασης των δεικτών (dim, bright) καθώς και αν εκφράζονται στο σύνολο ή σε ένα μέρος των βλαστών (partial)

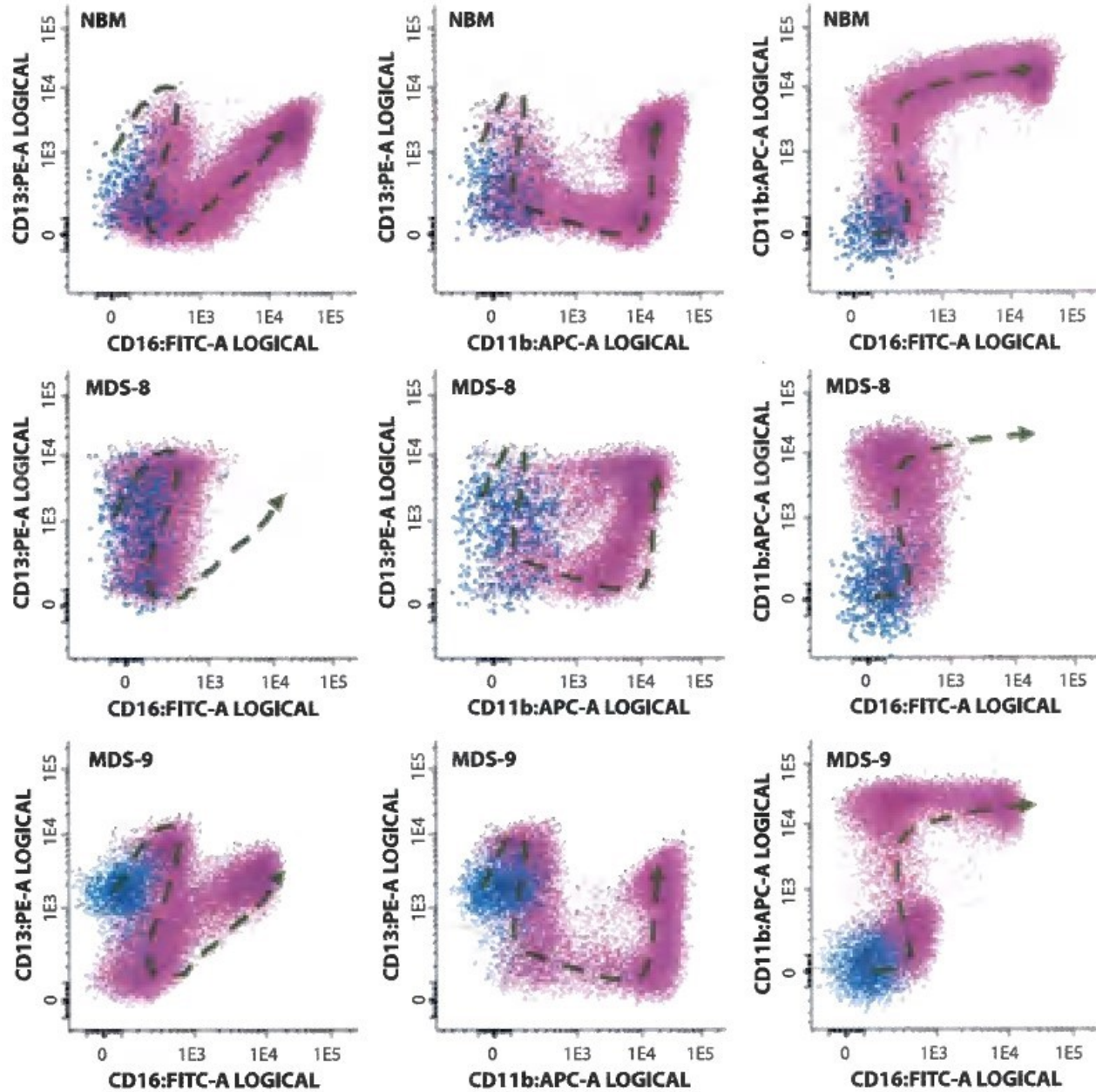
Στο συμπέρασμα πρέπει να αναγράφεται πως χαρακτηρίζεται ανοσοφαινοτυπικά η ΟΛ, το στάδιο διαφοροποίησης κατά WHO ή/και κατά FAB (πχ ΟΜΛ χωρίς ωρίμανση/M1), πληροφορίες για την κατεύθυνση της μοριακής μελέτης και τα LAIP με τα οποία θα αναζητηθεί η MRD κατά την παρακολούθηση.

The background is a dark blue color with several faint, light blue technical diagrams. On the right side, there is a large circular diagram with concentric circles and radial lines, resembling a scale or a gauge, with numbers from 80 to 210. In the bottom right, there are two smaller circular diagrams with arrows indicating a clockwise direction. In the bottom left, there is a partial circular diagram with an arrow pointing counter-clockwise. The overall aesthetic is technical and scientific.

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Ε) ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΙΕΣ

ΜΔΣ, patterns



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΥΕΛΟΣ

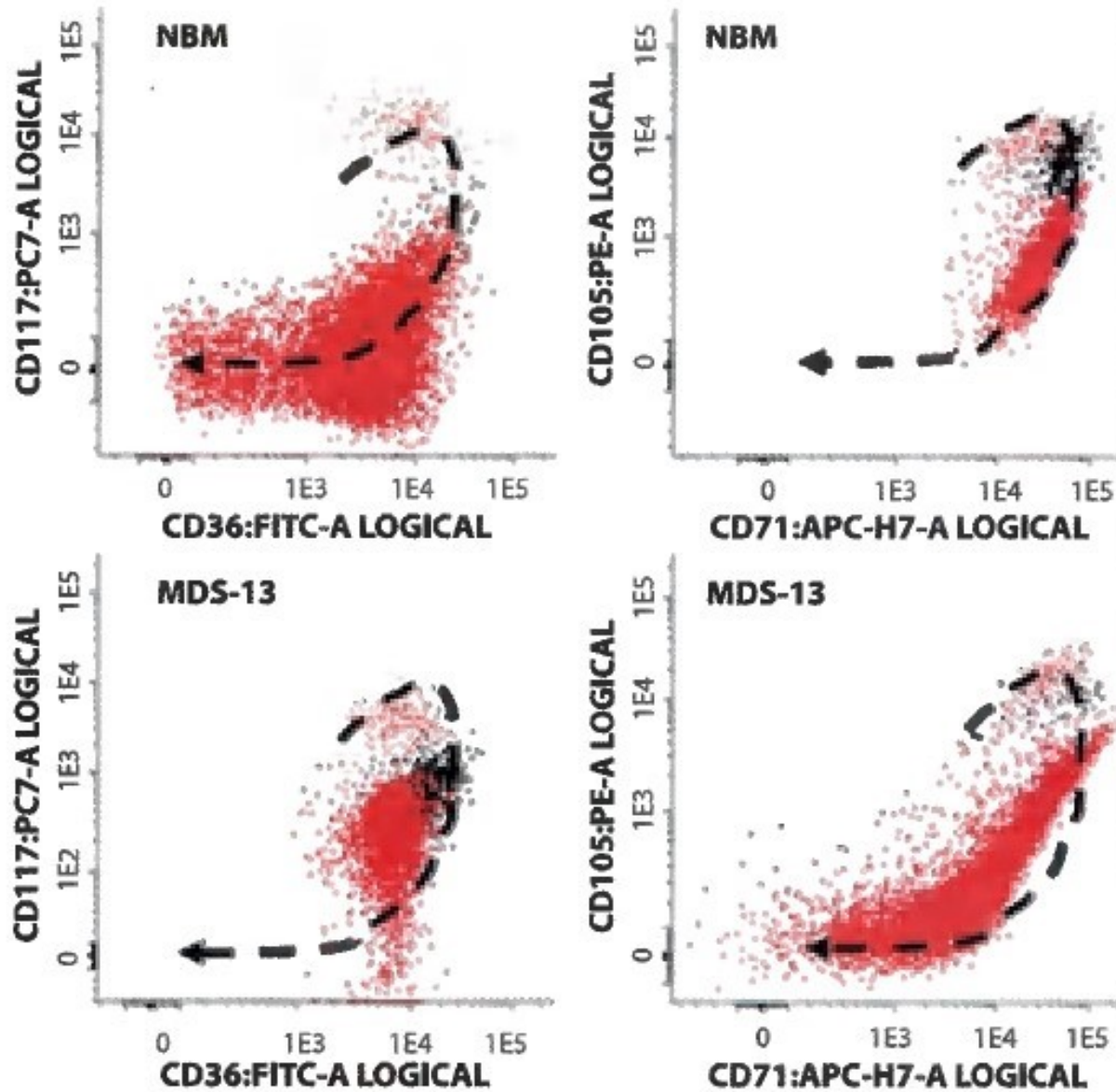
ΜΔΣ 1

ΜΔΣ 2

Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis of Hematologic Malignancies, A Porwit MC Bene

ΜΔΣ, patterns

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΥΕΛΟΣ



Ogata Score

1. SSC linear of neutrophils (defined as ratio to lymphocyte SSC for internal reference);
2. % CD34+ MyPCs among all nucleated cells;
3. % CD34+ B-cell precursors among all CD34+ cells;
4. CD45 expression of MyPCs (as ratio to lymphocytes' CD45 expression).

Αποκλίσεις από ΦΤ αναφοράς
βαθμολογούνται με 1 με μέγιστο το 4
Βαθμολογία (score) ≥ 2 ενδεικτικό για ΜΔΣ

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

ΣΤ) ΕΛΑΧΙΣΤΗ (Μετρήσιμη) ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΜΕΝΗ ΝΟΣΟΣ
(ΕΥΝ)

Ελάχιστη Υπολειπόμενη Νόσος (ΕΥΝ)

B-ΟΛΛ

T-ΟΛΛ

στόχος : απομόνωση με δεδομένη στρατηγική, ενός αθροίσματος (cluster) μετρικών γεγονότων (events), τα οποία να ξεχωρίζουν από τα υπόλοιπα αθροίσματα (φυσιολογικών κυττάρων) και να αφορούν τα υπολειμματικά νεοπλασματικά κύτταρα. Δηλ έγκαιρη ανίχνευση λευχαιμικού κυττάρου με δυναμική ανάκαμψης.

B –ΧΛΛ

Τριχωτή Λ

Ποσοτικός προσδιορισμός σε επίπεδο Λογαρίθμων
Νόσος 1% - επίπεδο 10^{-2} Νόσος 0,1% - επίπεδο 10^{-3}

ΟΜΛ

Βασικοί Περιορισμοί

Δεν υπάρχουν μονοκλωνικά αντισώματα απόλυτα ειδικά για τα λευχαιμικά κύτταρα
Λευχαιμικά κύτταρα: γενετικά και ανοσοφαινοτυπικά ασταθή
Σπάνια «φυσιολογικά» κύτταρα ή άτυπα κύτταρα «αδιευκρίνιστης σημασίας»
Τεχνικές δυσκολίες, αντιστάθμιση φθορισμών (compensation), μη ειδικός φθορισμός (artifacts)

B μη Hodgkin
Λεμφώματα

Πολλαπλούν
Μυέλωμα

Στρατηγική (συχνά εξειδικευμένη)

«κενών τόπων» (empty spaces) ή των «λευχαιμικών ανοσοφαινοτυπικών συνδυασμών» (Leukemia Associated Phenotypes, LAP ή LAIP).

Μεταμόσχευση
Μυελού

Ελάχιστη Υπολειπόμενη Νόσος (ΕΥΝ)

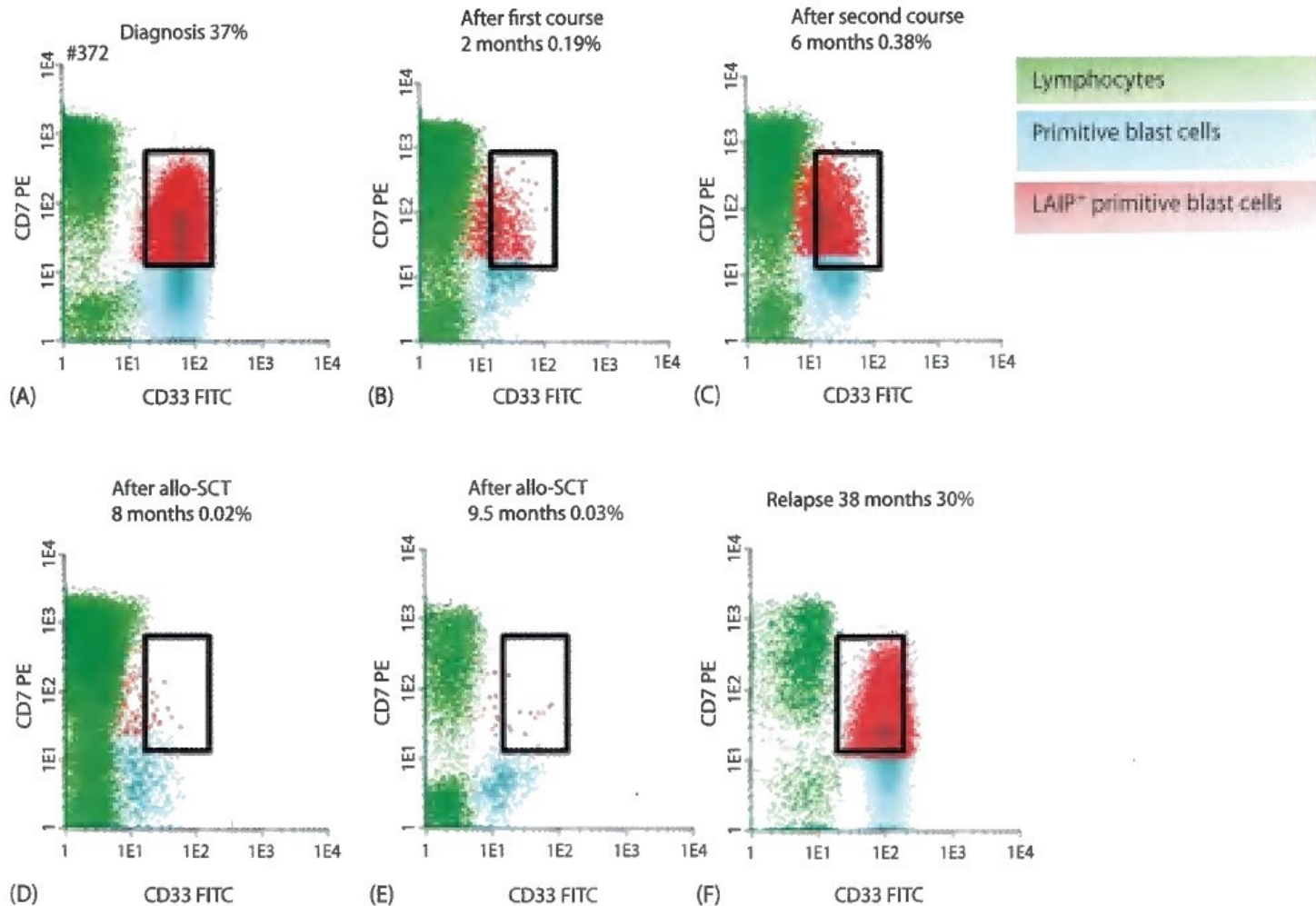


Figure 11.5 Changes in intensity of marker expression from diagnosis to relapse.

The Figure shows a CD34⁺CD7⁺CD33⁺ leukaemia-associated immunophenotype (LAIP) at diagnosis (A). The intensity of CD33 expression within the aberrant immunophenotype decreases during treatment/disease (B–E) and recovers to diagnosis intensity at relapse (F). Applying the diagnosis gating settings for follow-up situations would result in underestimation of LAIP percentages.

Multiparameter Flow Cytometry
in the Diagnosis of Hematologic
Malignancies, A Porwit MC Bene

Ελάχιστη Υπολειπόμενη Νόσος (ΕΥΝ)

ΟΜΛ : **LAIP** **συνέκφραση** δύο αντιγόνων διαφόρων σειρών π.χ. μυελικής και Β λεμφικής (Tdt+CD33+)

ασύγχρονη έκφραση, δηλαδή άωρα με ώριμα π.χ. CD34+CD14+

(Infidelity)

απουσία έκφρασης σε σχέση με την αναμενόμενη π.χ CD34+DR- αντί DR+,

ή **υπερέκφραση** όσον αφορά την ένταση CD34+CD123bright αντί για CD123dim.

Οι στρατηγικές ανίχνευσης ΕΥΝ με ΚΡ είναι ένα δυναμικό πεδίο, το οποίο συνεχώς μεταβάλλεται και τροποποιείται ανάλογα με την εμπειρία και την εξέλιξη της τεχνολογίας (αναλυτές και αντισώματα).

Ανάγκη για εξειδικευμένα εργαστήρια - κέντρα αναφοράς

ΛΗΨΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

The background features several technical diagrams. On the right side, there is a large circular gauge with a scale from 0 to 210 in increments of 10. The needle points to approximately 195. Below this gauge is another circular diagram with concentric circles and arrows indicating a clockwise direction. In the bottom left corner, there are more circular elements, including a dashed circle with an arrow pointing counter-clockwise.

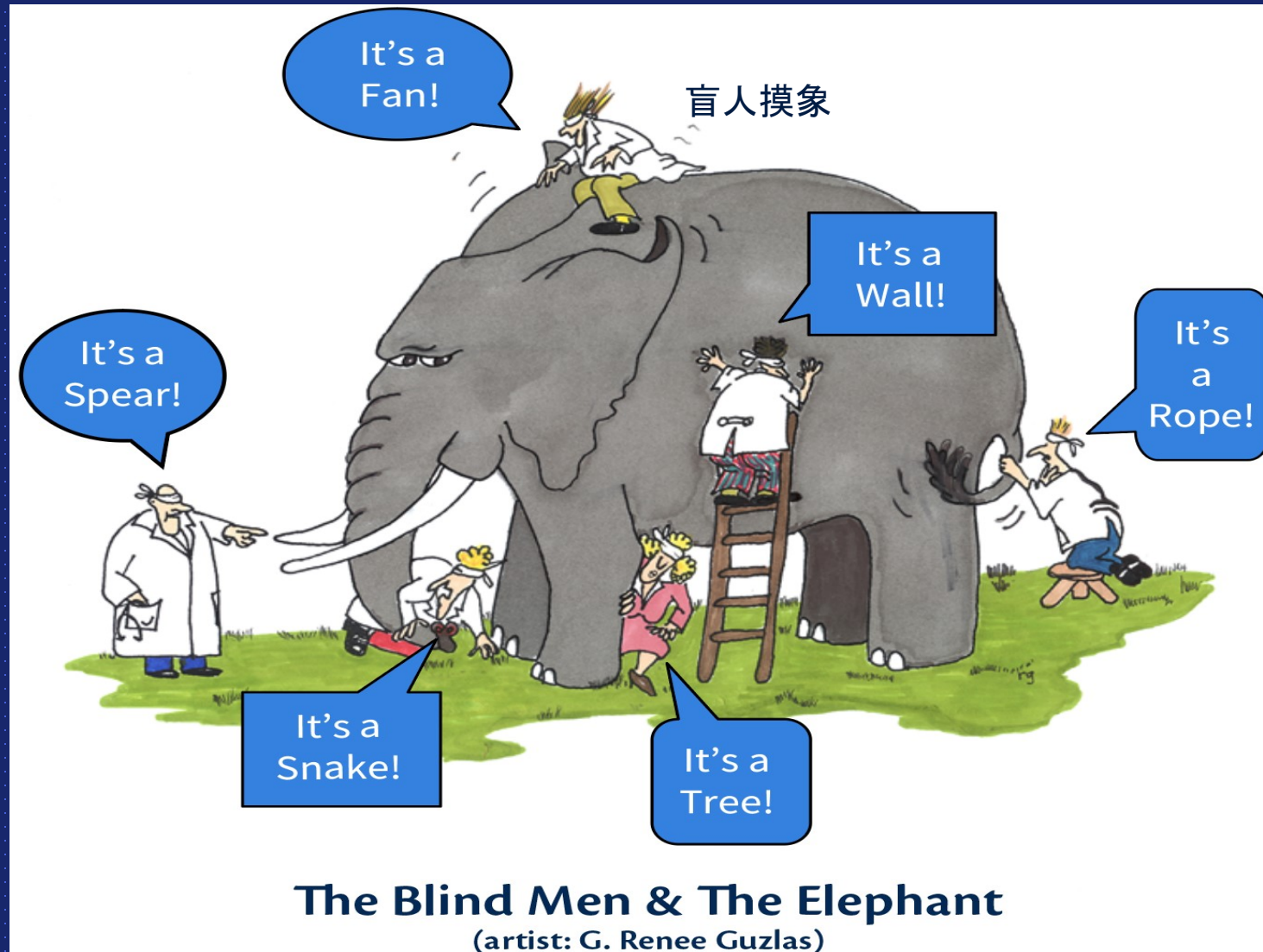
ΛΗΨΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

- Κάθε μέτρηση Σκέδασης ή Φθορισμού συλλέγεται στον αντίστοιχο ανιχνευτή
- Ο αριθμός των παραμέτρων (ή μεταβλητών) διαφέρει ανάλογα με την εφαρμογή αλλά και τον εξοπλισμό
πχ σε σωληνάριο που έχουν προστεθεί αντισώματα 5 διαφορετικών χρωστικών είναι 7 παραμέτρων (FS, SS, και 5 φθορισμών)
- Τα δεδομένα συλλέγονται σε «λίστα» με τις τιμές από κάθε παράμετρο και για κάθε «μετρικό γεγονός» (κύτταρο)
- Τα παραγόμενα αρχεία ονομάζονται **“ListMode Files” (LMD)** τα οποία σώζονται με συγκεκριμένο τρόπο (format), FCS 3.0 (τρέχων). Απαραίτητο κατά την ανάλυση με χρήση λογισμικού διαφορετικού από της λήψης δεδομένων.
- Με τα προγράμματα ανάλυσης μπορούμε να τροποποιήσουμε την αρχική οριοθέτηση και να αποκλείσουμε γεγονότα. **Πλεονέκτηματα** : δεν απαιτείται επανάληψη δείγματος, παρέχεται χρόνος για την ανάλυση δύσκολων εφαρμογών όπως η υπολλειπόμενη νόσος (MRD), ελευθερώνεται ο αναλυτής για χρήση.

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΠΟΛΛΩΝ ΔΙΑΣΤΑΣΕΩΝ

The Blind Men and The Elephant

High-dimensional distribution



ΛΗΨΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ, ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Όσες περισσότερες παραμέτρους διαθέτουμε, τόσο πιο περίπλοκη η ανάλυση
- Περισσότερες παράμετροι σημαίνουν περισσότερες πιθανότητες προσδιορισμού του υπό μελέτη πληθυσμού
- Τα στικτογράμματα βοηθούν αλλά ίσως δεν επαρκούν
- Ανάγκη για φιλικό και γρήγορο λογισμικό πέραν αυτού της λήψης δεδομένων (Kaluza, Flow Jo, Infinicyt κλπ)

Στο μέλλον
(παρόν στην έρευνα)



- Principle Component Analysis, viSNE, SPADE, CITRUS, FLOWSOM χρήσιμα στην πολυπαραμετρική ανάλυση

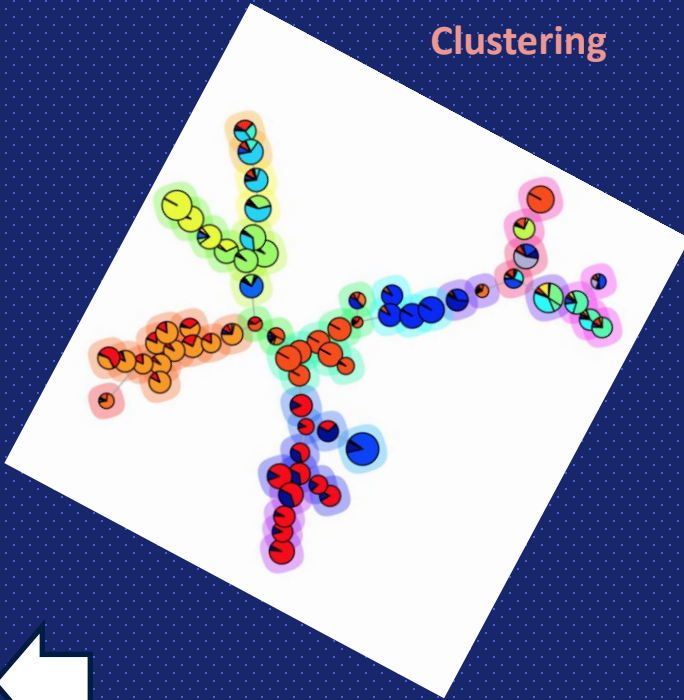
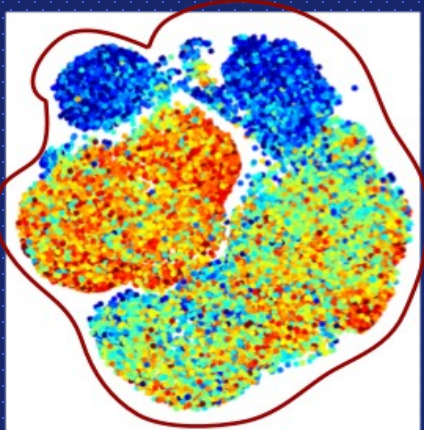
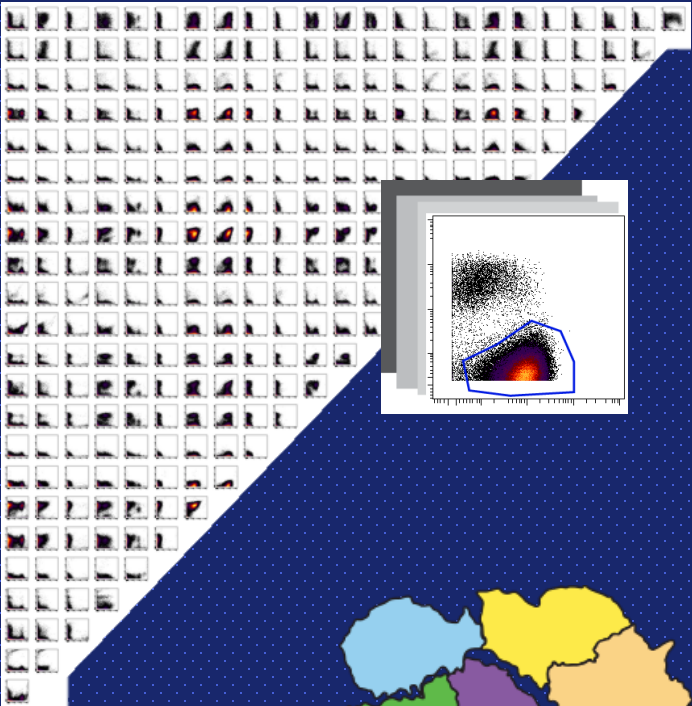
ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΙ «MACHINE LEARNING» ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ

Raw Data Processing,
Quality Control

Dimensionality
Reduction

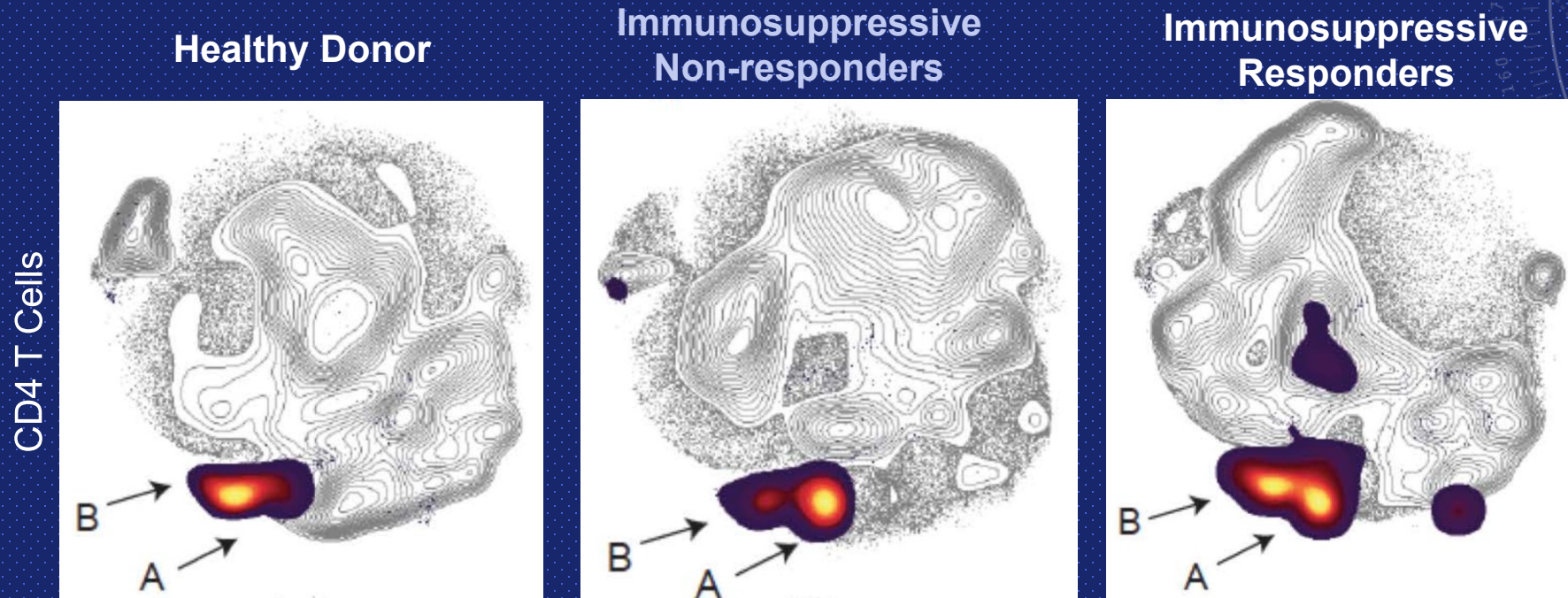
Clustering

Data Visualization



	CD3	CD4	CD8a	CD69	CD45RA
Naïve CD4 ⁺ T cells	Yellow	Yellow	Black	Black	Yellow
Memory CD4 ⁺ T cells	Yellow	Yellow	Black	Black	Black
Naïve CD8 ⁺ T cells	Yellow	Black	Yellow	Yellow	Yellow
Memory CD8 ⁺ T cells	Yellow	Black	Yellow	Black	Black

MACHINE LEARNING ALGORITHMS

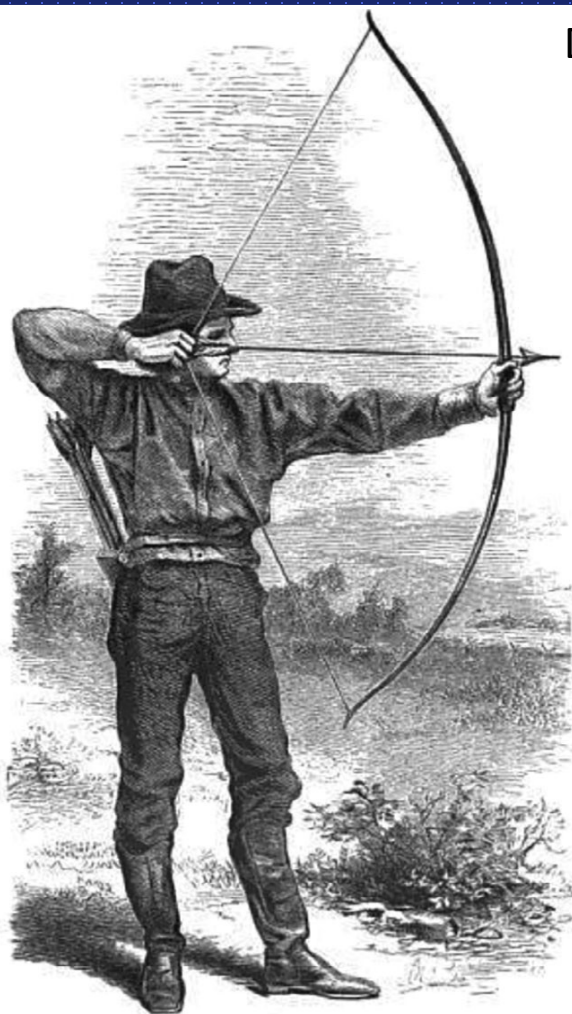


Highlighted Treg: $CD25^{+}Foxp3^{+}CD127^{-}$

- viSNE density plots revealed two Treg subpopulations
- Non-responders have more A subpopulation than non responders/healthy
- B subpopulation has more memory/activation phenotype

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Διαδραστική τεχνική, συνεχώς εξελισσόμενη
- Μεγάλος αριθμός σωματιδίων - >25.000 eps (events per second) – Ταχύτητα
- Ταυτόχρονος προσδιορισμός διαφορετικών πληθυσμών χωρίς να απαιτείται διαχωρισμός
- Ανάλογα με την ασθένεια υποστηρίζει σε διαφορετικό βαθμό διάγνωση, πρόγνωση και θεραπεία
- Αποτελεί προϋπόθεση για εξειδικευμένο κυτταροδιαχωρισμό
- Πολυπαραμετρική, (πολυδιάστατη) το σύνολο της πληροφορίας βασίζεται στο συνδυασμό πολλών διαστάσεων



DRAWING THE BOW.

Figure 1. The bowman by Maurice Thompson - The witchery of archery: a complete manual of archery (1878). From Wikipedia (<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8687330>). (This work is in the public domain in its country of origin and other countries and areas where the copyright term is the author's life plus 100 years or less.)

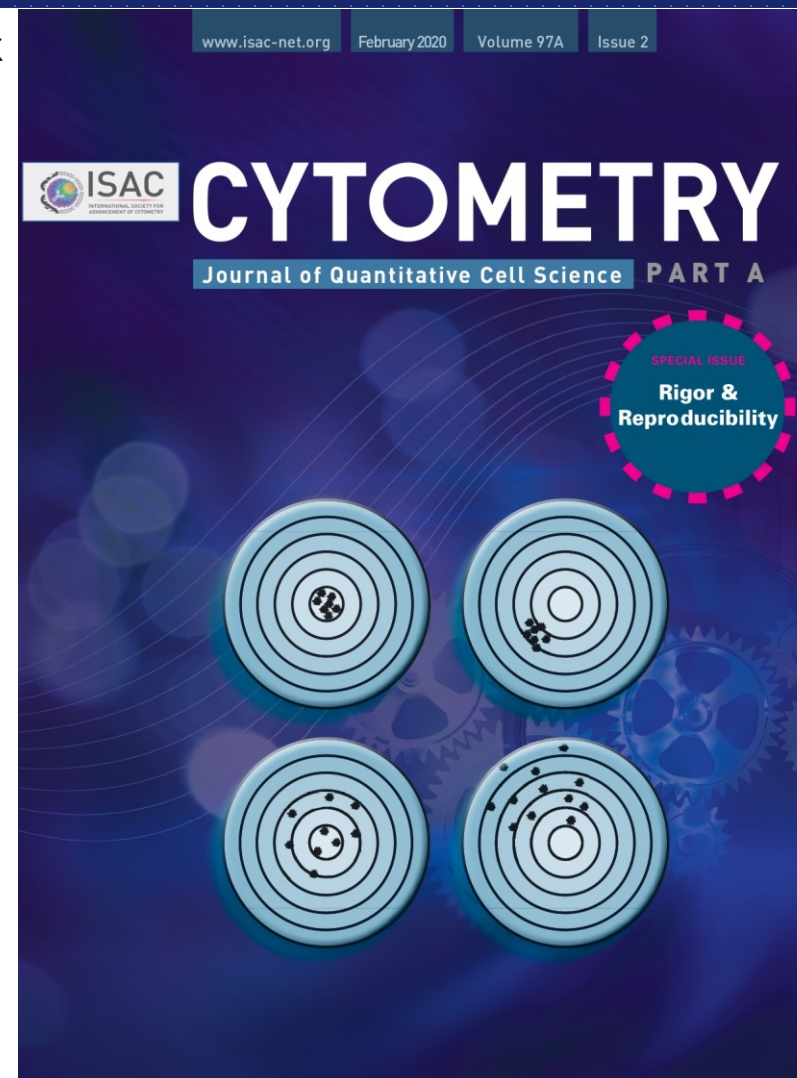
Drawing the Bow for Reproducibility, Attila Tárnok

Improving the Rigor and Reproducibility of Flow Cytometry-Based Clinical Research and Trials Through Automated Data Analysis Ryan R. Brinkman

Rigor and Reproducibility of Cytometry Practices for Immuno-Oncology: A Multifaceted Challenge Tamara J. Laskowski, Amy L. Hazen, Renata S. Collazo, David Haviland

Relevance of Antibody Validation for Flow Cytometry Tomas Kalina, Kelly Lundsten, Pablo Engel

Reproducibility of Flow Cytometry Through Standardization: Opportunities and Challenges



ΠΗΓΕΣ

Flow cytometry strikes gold J. Paul Robinson and Mario Roederer, Science, 13 NOVEMBER 2015, VOL 350 ISSUE 6262 739

Paul Robinson, Purdue University BMS 631 - 632

Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis of Hematologic Malignancies, A Porwit MC Bene

M Keeney et al ,A QA Program for MRD Testing Demonstrates That Systematic Education Can Reduce Discordance Among Experienced Interpreters. Cytometry Part B (94B:239–249 (2018)

M Reiter et al, Automated Flow Cytometric MRD Assessment in Childhood Acute B- Lymphoblastic Leukemia Using Supervised Machine Learning, Cytometry (Part A), 2019

Βασική εκπαίδευση στην Κυτταρομετρία Ροής. Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία – Οξείες Λευχαιμίες Αδιευκρίνιστης Σειράς – Μαθήματα Κυτταρομετρίας Ροής, Ιωάννινα 2013, Λίλα Δημητρακοπούλου

Μελέτη και Ανάλυση του Ανοσοφαινότυπου στη Διάγνωση και Παρακολούθηση των Οξείων Λευχαιμιών, Μαριάννα Τζανουδάκη

Υπολειμματική νόσος σε κακοήθη νοσήματα του αιμοποιητικού ιστού, Γ. Πατεράκης

Vitreous and aqueous fluid flow cytometry in the diagnosis of ocular lymphoma, fourteen years of experience G. Paterakis, T. Papadaki, Markomichelakis N, P. Vasileiou ESCCA 2017

Ευχαριστίες

Χρυσάνθη Βαδικόλια, Αιματολογική Κλινική 424

Ευάγγελο Γιαμαρέλλο, Δ' Παθολογική Κλινική, Αττικό

Λίλα Δημητρακοπούλου, Ανοσολογικό Εργαστήριο, Λαϊκό

Γεώργιο Πατεράκη, Ανοσολογικό Εργαστήριο Γ. Γεννηματάς

Μαριάννα Τζανουδάκη, Ανοσολογικό Εργαστήριο Αγ Σοφία

Κατερίνα Ψαρρά, Ανοσολογικό Εργαστήριο Ευαγγελισμός

